

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



PERFIL MICROBIOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DO PACIENTE COM PERIODONTITE

Inês Filipa Lopes Piteira

MESTRADO INTEGRADO

2011

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



PERFIL MICROBIOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DO PACIENTE COM PERIODONTITE

Dissertação orientada pelo Dr. Paulo Mascarenhas

Inês Filipa Lopes Piteira

MESTRADO INTEGRADO

2011

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, o meu exemplo e a quem devo tudo o que sou.

Ao meu namorado, João, o meu pilar, pela compreensão, força e inspiração ao longo destes anos.

Aos meus amigos e colegas pelos momentos partilhados e apoio durante este período.

Ao Dr. Paulo Mascarenhas, pela disponibilidade, profissionalismo e ajuda na elaboração desta Tese.

RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória crónica, que se caracteriza pela presença de um intenso infiltrado inflamatório associado a perda óssea alveolar irreversível e a destruição do tecido conjuntivo. Representa a causa mais prevalente de perda de dentes em humanos. A patogénese da periodontite relaciona-se com a interacção estabelecida entre a microbiota subgengival e a resposta imune do hospedeiro. A transição saúde- doença é acompanhada por alterações na flora predominante. Nos casos de doença, a flora microbiana é essencialmente constituída por microrganismos Gram-negativos anaeróbios, em detrimento de microrganismos facultativos Gram-positivos, comuns em saúde. Apesar da enorme variedade de bactérias existentes na cavidade oral, apenas um número reduzido está envolvido no desenvolvimento da periodontite. Os principais microrganismos associados a lesões periodontais destrutivas são *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, pertencentes ao complexo vermelho, *Prevotella intermedia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. A presença destes patogéneos desencadeia uma resposta imune inata e adaptativa, com o intuito de promover a sua eliminação. No paciente com periodontite existem alterações nos mecanismos de defesa, que permitem o desenvolvimento da doença e influenciam a sua severidade. A regulação génética da resposta imune determina a existência de pacientes com diferentes capacidades de desenvolver respostas eficazes e protectoras contra as bactérias patogénicas. A susceptibilidade à periodontite deve-se à incapacidade do sistema imune desenvolver uma resposta altamente específica para os antígenos bacterianos dominantes.

Palavras- chave: periodontite; patogénese; patogéneos periodontais; resposta imune; susceptibilidade.

ABSTRACT

Periodontitis is a chronic inflammatory disease, characterized by the presence of an intense inflammatory infiltrate associated with irreversible bone loss and destruction of the periodontal connective tissue. It represents the most prevalent cause of tooth loss in humans. The pathogenesis of periodontitis is related to the interaction established between the subgingival microbiota and the subsequent host immune response. The health-illness transition is accompanied by changes in the predominant flora. In diseased situations, microbial flora consists mainly of Gram-negative anaerobes, while Gram-positive microorganisms are commonly found in healthy cases. Despite the enormous variety of bacteria in the oral cavity, only a small number is involved in the development of periodontitis. The main microorganisms associated with destructive periodontal lesions are *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, belonging to the red complex, *Prevotella intermedia* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. The presence of these pathogens triggers an innate and adaptive immune response, in order to promote their elimination. Patients with periodontitis present disorders in their defense mechanisms that allow the development of disease and influence its severity. The genetic regulation of the immune response determines that there are patients with different capacities to develop effective responses and protection against pathogenic bacteria. The susceptibility to periodontitis is due to the inability of the immune system to develop a highly specific response against to the dominant bacterial antigens.

Key- words: periodontitis; pathogenesis; periodontal pathogens; immune response; susceptibility.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	i
Resumo/ Palavras- chave	ii
Abstract/ Key-words	iii
Abreviaturas e siglas	v
1. Introdução	1
1.1 A periodontite como doença	1
1.2 Patogénese da periodontite	2
2. Metodologia	5
3. Microbiologia da periodontite	5
3.1 Papel da placa bacteriana no desenvolvimento da periodontite e principais patogéneos periodontais	5
3.2 Factores de virulência bacteriana, invasão e destruição dos tecidos periodontais	7
4. Imunologia da periodontite	11
4.1 A imunidade inata	11
4.1.1 Recrutamento e função dos neutrófilos	13
4.1.2 Papel dos macrófagos	16
4.1.3 Função do sistema complemento	17
4.2 A imunidade adaptativa	20
4.2.1 A resposta imune celular- papel dos linfócitos T	20
4.2.2 A resposta imune humoral- papel dos linfócitos B	22
5. A resposta imune e a destruição periodontal	24
6. Relevância da susceptibilidade individual	28
7. Conclusão	30
8. Bibliografia	31
9. Anexos	vii
10. Índice de anexos	viii

Abreviaturas e siglas

A.a.: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

ATP: Trifosfato de adenosina

CMH: Complexo *major* de histocompatibilidade

C.r.: *Campylobacter rectus*

DFA: Factor acelerador de degradação

ELAM-1: Molécula de adesão endotelial-1 dos leucócitos

E.n.: *Eubacterium nodatum*

Gram- : Gram- negativo(a)

Gram+: Gram- positivo(a)

IFN γ : Interferão γ

IgG: Imunoglobulina G

IgA: Imunoglobulina A

IgM: Imunoglobulina M

ICAM-1: Molécula de adesão intercelular-1

IL-1: Interleucina-1

IL-1 β : Interleucina-1 β

IL-6: Interleucina-6

IL-8: Interleucina-8

LPS: Lipopolissacárido

PMNs: Polimorfonucleares

TNF α : Factor de necrose tumoral α

MASPs: Proteases serinas associadas a MBL

MBL: Lectina de ligação à manose

MMPs: Metaloproteínases da matriz

MyD88: Proteína de resposta primária de diferenciação miéloide

OPG: Osteoprotegerina

P.g.: *Porphyromonas gingivalis*

PgE₂: Prostaglandina E₂

P.i.: *Prevotella intermedia*

P.m.: *Peptostreptococcus micros*

RANK: Receptor activador do factor nuclear κ B

Abreviaturas e siglas

RANKL: Ligando do receptor activador do factor nuclear κ B

S.i.: *Streptococcus intermedius*

T.f.: *Tannerella forsythia*

T.d.: *Treponema denticola*

TGF β : Factor transformador de crescimento β

Th₁: T helper 1

Th₂: T helper 2

TIMPS: Inibidores teciduais de metaloproteínases

1. Introdução

1.1 A periodontite como doença

A periodontite é uma doença inflamatória dos tecidos periodontais, que se caracteriza pela perda de suporte, mais especificamente pela destruição das fibras do ligamento periodontal e osso alveolar, no qual os dentes se inserem (Listgarten, 1986). É uma doença infecciosa, na qual patógenos periodontais desencadeiam respostas imunes e inflamatórias crónicas, que determinam a progressão da doença (Garlet *et al.*, 2004). A maior parte destes microrganismos pode causar destruição tecidual de duas formas: directamente, através da invasão dos tecidos e produção de substâncias que provocam morte celular e necrose tecidual, ou, indirectamente através da acção de células inflamatórias, que produzem e libertam mediadores, que actuam em efectores com potente actividade pró-inflamatória (Bascones- Martínez *et al.*, 2009). Estes mediadores desencadeiam a reabsorção do osso alveolar e produção de proteases, que destroem a matriz extracelular (Garlet *et al.*, 2004). Clinicamente, as lesões periodontais podem associar-se a graus variáveis de vermelhidão gengival e hemorragia. Contudo, a destruição periodontal pode afectar os tecidos em profundidade, levando a perda progressiva de osso alveolar, ligamento periodontal e formação de bolsas periodontais, devido à migração apical do epitélio juncional (Ozmeric, 2004). Em última instância, a destruição destes tecidos de suporte resulta em perda dentária (Listgarten, 1986; Tokoro *et al.*, 1997; Garlet *et al.*, 2004).

As bactérias são fundamentais para o desenvolvimento da periodontite, mas não são por si só suficientes (Garlet *et al.*, 2004; Ishikawa, 2007). Aspectos relacionados com o hospedeiro, como genética e factores ambientais são determinantes na ocorrência e severidade da doença (Ishikawa, 2007). O desenvolvimento da periodontite exige a existência prévia de gengivite, contudo esta não implica directamente a progressão da doença para periodontite (Listgarten, 1986; Offenbacher, 1996; Kinane, 2001).

A periodontite é bastante variável, não afecta uniformemente toda a dentição e apresenta predilecção por certos indivíduos e localizações. O diagnóstico de localizações específicas com gengivite que poderão evoluir para periodontite não é actualmente viável, pelo que o tratamento da inflamação gengival representa uma medida de prevenção primária (Kinane, 2001).

A progressão desta doença é provavelmente contínua com episódios breves de exacerbação localizada e remissão ocasional (Kinane, 2001). Trata-se de uma doença com efeitos cumulativos, sendo que na maioria dos pacientes se observa uma perda incremental do osso alveolar durante anos e acaba por resultar na causa mais prevalente de perda de dentes em humanos (Listgarten, 1986; Kinane, 2001; Kornman, 2008; Garlet, 2010; Gelani *et al.*, 2010).

1.2 Patogénese da periodontite

A saúde dos tecidos periodontais é mantida num estado de relativo equilíbrio compatível com destruição mínima e reparação/ regeneração imediata dos tecidos afectados. Alterações locais ou sistémicas, que diminuem a resistência do hospedeiro, ou, alterações quantitativas ou qualitativas da microbiota periodontal, que resultam num aumento da sua virulência, perturbam este equilíbrio (Listgarten, 1986; Smalley, 1994).

A periodontite é uma doença complexa, cuja expressão envolve uma intrincada interacção entre o biofilme e a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro, com consequentes alterações no osso e homeostase do tecido conjuntivo (Smalley, 1994; Kornman, 2008). Esta interacção determina a extensão e severidade da doença (Bascones- Martínez *et al.*, 2009).

A era moderna da patogénese, prevenção e tratamento das doenças periodontais iniciou-se em 1960 com estudos experimentais em humanos e ratos, cuja evidência demonstrou o papel fulcral das bactérias na iniciação da gengivite e periodontite. Surgiu um conceito claro de patogénese: as bactérias causam doença periodontal. Este modelo considerava que os depósitos de placa bacteriana funcionavam como factor directo no desenvolvimento de periodontite e resultou no abandono de outros conceitos que envolviam factores não bacterianos, como trauma oclusal, condições sistémicas e dieta (Kornman, 2008). Numerosos estudos levaram a um avanço do conhecimento nos anos 70 e 80. Anaeróbios Gram- negativos (Gram-) específicos ou bactérias micro-aerofílicas foram identificadas como causas da periodontite e o papel protector e destrutivo da resposta imuno-inflamatória foi descrito em saúde e doença (Kornman, 2008; Bhatavadekar, 2009). O papel crítico dos neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) na destruição periodontal tornou-se mais conhecido, tal como os mecanismos de acção subjacentes. A investigação extensa durante os anos 80 levou a refinamentos no conceito de patogénese. Bactérias específicas iniciam a doença através da activação de

respostas do hospedeiro, que são protectoras e destrutivas. Talvez o aspecto mais importante nesta progressão de conhecimento tenha sido a distinção entre o papel do desafio microbiano e os mecanismos imuno-inflamatórios na patogénese da doença periodontal (Kornman, 2008).

Na presença de bactérias, os neutrófilos são recrutados para a bolsa periodontal ou para o sulco gengival, atraídos por moléculas de origem bacteriana, designadas de péptidos quimiotáticos. O dano causado pelas bactérias às células epiteliais leva-as a libertar moléculas designadas citoquinas, que atraem mais leucócitos, predominantemente neutrófilos, para o sulco. No interior do sulco, os neutrófilos fagocitam, “digerem” bactérias e consequentemente removem-nas da bolsa. Se os neutrófilos são sobrecarregados com bactérias, sofrem desgranulação, o que leva a destruição tecidual adicional, devido à libertação de enzimas tóxicas. A defesa instituída pelos neutrófilos pode em algumas circunstâncias ser suficiente contra a carga bacteriana e é muito importante na prevenção do estabelecimento de uma lesão periodontal. Contudo, se existe sobrecarga bacteriana, os neutrófilos e a barreira imposta pelas células epiteliais pode não ser suficiente para combater a infecção. Nestas circunstâncias, pode detectar-se uma gengivite, que se caracteriza por vermelhidão gengival, edema e aumento da tendência para hemorragia à sondagem. A maior parte dos indivíduos desenvolve sinais clínicos de gengivite em 10-20 dias após a acumulação de placa bacteriana. Nesta fase, a inflamação gengival é reversível, se a placa bacteriana for removida através de medidas efectivas de higiene oral (Kinane, 2001).

A conversão gengivite- periodontite relaciona-se com a iniciação de uma lesão activa, que pode resultar de alterações na composição bacteriana com elevado potencial patogénico, da activação ou modificação da resposta do hospedeiro, de alterações ambientais, ou expressão de factores de virulência microbianos particulares (Smalley, 1994). Quando a defesa dos neutrófilos é evadida, as bactérias e produtos bacterianos conseguem penetrar mais profundamente nos tecidos, iniciando-se assim a transição de gengivite- periodontite (Offenbacher, 1996). Esta transição é acompanhada por uma alteração na população dominante de linfócitos T para uma população de células plasmáticas. Se, nesta fase o hospedeiro conseguir rapidamente montar uma defesa de anticorpos suficientemente protectora, a agressão das bactérias é controlada e a doença assume uma forma ligeira ou limitada. Contudo, se esta mesma linha de defesa não produzir *clearance* bacteriano suficiente, ocorre proliferação bacteriana com penetração mais profunda de produtos bacterianos e antigénios, levando ao recrutamento e

activação de monócitos/linfócitos. Consequentemente ocorre secreção de citocinas e mediadores inflamatórios, como prostaglandina E_2 (PGE_2), interleucina-1 e interleucina-6 (Il-1, Il-6) e factor de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$). Estes mediadores desencadeiam sinais clínicos de inflamação, destruição do tecido conjuntivo, bem como perda de inserção, com formação de bolsas periodontais e perda óssea. As diferenças na resposta de monócitos/linfócitos a diferentes antígenos são determinadas geneticamente, o que influencia a natureza protectora da resposta de anticorpos e a magnitude da destruição tecidual (Offenbacher, 1996).

A inflamação e a formação de bolsas periodontais providencia nutrientes e o ambiente favorável para o crescimento e emergência de bactérias subgingivais anaeróbias. Isto significa que, maior destruição tecidual leva à formação de bolsas mais profundas, maior inflamação e proporciona o ambiente ideal para o sobrecrecimento de espécies patogénicas (Offenbacher, 1996). À medida que o suporte periodontal é perdido, surgem alterações anatómicas, como aumento de profundidade das bolsas, exposição de furca ou desenvolvimento de trauma oclusal secundário, que podem acelerar a intensidade, frequência e/ou duração dos episódios de destruição tecidual.

Verifica-se que, enquanto a etiologia da periodontite é bacteriana, a patogénese é inflamatória (Van Dyke, 2009). A patogénese da destruição periodontal envolve a activação sequencial de diferentes componentes da resposta imune e inflamatória, cujo objectivo primordial é a defesa dos tecidos contra a agressão bacteriana, reflectindo o papel essencial de protecção (Bascones- Martínez *et al.*, 2009). Contudo, a maior parte dos danos teciduais ocorre via resposta inflamatória. A destruição do tecido conjuntivo é principalmente causada pelo hospedeiro, que procura proteger e evitar a proliferação apical do epitélio juncional, escapando da superfície radicular tóxica para evitar a progressão da lesão (Smalley, 1994; Bascones- Martínez *et al.*, 2009). Assim sendo, a resposta imune tem um efeito protector e destrutivo sobre o periodonto (Taubman *et al.*, 2005; Ishikawa, 2007)

Por outro lado, com a informação de que vários factores contribuem para a doença periodontal surgiu o reconhecimento de que o fenótipo clínico não é simplesmente o desafio microbiano traduzido por uma resposta imune *standard*. Os factores de risco representam elementos associados com o aumento da probabilidade de ocorrência da doença em determinados indivíduos (Hart *et al.*, 1994). Variada investigação mostra que o tabaco e a diabetes são determinantes poderosos na severidade da doença (Smalley, 1994; Ishikawa, 2007). Estes factores de risco

influenciam a expressão da doença, através da alteração de mecanismos protectores e destrutivos do hospedeiro. Na ausência de factores de risco que modifiquem a doença, parece que o hospedeiro responde apropriadamente à acumulação bacteriana, sendo capaz de limitar a destruição dos tecidos periodontais. Na presença de factores de risco, tal como tabaco, uma resposta exuberante e/ou compromisso dos mecanismos de reparação leva a maior destruição periodontal. A perturbação da resposta imuno-inflamatória leva a que o equilíbrio existente a nível dos tecidos seja alterado no sentido de maior destruição periodontal (Kornman 2008).

Torna-se fundamental a compreensão da patogénese da periodontite e o conhecimento de vias e mediadores inflamatórios, uma vez permitem o desenvolvimento de novas abordagens e intervenções na doença (Bhatavadekar & Williams, 2009).

2. Metodologia

Para realização desta Tese de Mestrado utilizou-se a base de dados *Pubmed*, para pesquisa de artigos científicos, publicados entre 1979 e 2010, tendo-se utilizado as seguintes palavras-chave: *periodontitis*, *pathogenesis*, *periodontal pathogens*, *immune response* e *susceptibility*.

3. Microbiologia da periodontite

3.1 Papel da placa bacteriana no desenvolvimento da periodontite e principais patogénese periodontais

Há muito que se reconhece que as bactérias são um factor essencial na etiologia e progressão da doença periodontal (Guthmiller *et al.*, 2001). A primeira evidência directa de que as doenças periodontais são infecciosas resultou de estudos em animais desenvolvidos por Loe, que demonstrou que a doença é de facto causada por bactérias (Page, 1995). Anteriormente aos anos 60, considerava-se que a doença resultava de um aumento da massa total bacteriana, não existindo diferenças qualitativas na composição da microbiota (Guthmiller *et al.*, 2001; Xuesong *et al.*, 2009). Tal consideração era devida a falta de técnicas aceitáveis para realização de culturas e falhas no conhecimento sobre a taxonomia da microbiota oral (Xuesong *et al.*, 2009). Esta teoria inespecífica de placa foi substituída por uma teoria específica, que sugere que espécies

específicas são responsáveis pela doença (Guthmiller *et al.*, 2001). Os postulados de Koch surgiram como uma ferramenta útil na determinação do papel dos microrganismos na etiologia de doenças infecciosas, apresentando um elevado grau de predictibilidade (Dahlén, 1993). Socransky propôs modificações aos postulados de Koch na determinação dos patogêneos periodontais. Deste modo, foram estabelecidos os seguintes critérios: a porção *major* de bactérias alvo deve estar associada com a periodontite; a eliminação das bactérias alvo resulta na interrupção da progressão da doença; a resposta do hospedeiro contra bactérias alvo deve ser elucidada; se possível a patogenicidade deve ser demonstrada em modelos animais; possíveis mecanismos únicos de patogenicidade devem ser indicados (Dahlén, 1993; Nishihara & Koseki, 2004). Apesar das centenas de espécies bacterianas existentes na placa, apenas um número limitado desempenha um papel determinante na patogênese da doença (Listgarten, 1986; Dahlén, 1993). Na saúde periodontal, a estrutura ordenada do biofilme bacteriano é essencialmente constituída por bactérias Gram- positivas (Gram+) facultativas anaeróbias (Ezzo & Cutler, 2003; Krauss *et al.*, 2010). A transição saúde-doença caracteriza-se por alterações na flora dominante. As espécies bacterianas implicadas na etiologia da doença partilham características ou factores comuns e os principais patogêneos periodontais são anaeróbios Gram- (Slots & Listgarten, 1988; Page, 1995; Kinane, 2001; Nishihara & Koseki, 2004; Krauss *et al.*, 2010). Os principais microrganismos associados a lesões periodontais destrutivas são *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Prevotella intermedia* (P.i.), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Tannerella forsythia* (T.f.) e *Treponema denticola* (T.d.) (Slots & Listgarten, 1988; Kinane, 2001; Paju *et al.*, 2009). Usando um código de cores, Socransky caracterizou a comunidade microbiana em complexos de cor vermelha, laranja, verde, roxa e amarela, com base na análise de *clusters*, ordenação da comunidade e associação com a severidade da doença. A prevalência elevada do complexo vermelho, constituído por P.g., T.d. e T.f, o mais virulento, correlaciona-se fortemente com a destruição periodontal (Holt & Ebersole, 2005; Paju *et al.*, 2009; Krauss *et al.*, 2010). P.i. e *Fusobacterium nucleatum* (F.n.) membros do complexo laranja estão associados com várias formas da doença periodontal (Paju *et al.*, 2009; Krauss *et al.*, 2010). Estudos revelam níveis significativamente superiores das bactérias pertencentes ao complexo vermelho em pacientes com periodontite crónica e agressiva, comparativamente a indivíduos com gengivite, sendo que a microbiota existente nas duas formas de periodontite é semelhante (Rescala *et al.*, 2010). As espécies deste

complexo aderem fortemente através de interações específicas e também podem vincular-se a outras bactérias comensais existentes no biofilme (Bodet *et al.*, 2007).

Muitos outros microrganismos foram identificados na flora subgengival. Entre os microrganismos moderadamente relacionados com a doença estão *Campylobacter rectus* (C.r.), *Eubacterium nodatum* (E.n.), F.n., *Peptostreptococcus micros* (P.m.) e *Streptococcus intermedius* (S.i.) (Slots, 1986).

2.2 Factores de virulência bacteriana, invasão e destruição dos tecidos periodontais

A invasão tecidual pelos patógenos periodontais é um importante factor de virulência ao permitir a protecção dos mesmos contra o sistema imune do hospedeiro e promover a destruição tecidual (Slots, 1986; Lamont *et al.*, 1995). As bactérias invasivas desenvolvem diversos mecanismos para penetrarem nos tecidos. De uma forma geral, inicialmente estas bactérias aderem à membrana das células epiteliais e induzem alterações bioquímicas e estruturais que facilitam a invasão. Os eventos de sinalização do hospedeiro que precedem a invasão bacteriana envolvem o influxo intracelular de cálcio, fosforilação e síntese proteica, e resultam na reorganização do citoesqueleto para acomodar invaginações da membrana, que permitem a entrada de bactérias para o interior das células (Lamont *et al.*, 1995; Nishihara & Koseki, 2004). Verifica-se que a presença de bactérias é sempre maior em tecidos infectados. Saglie e colaboradores reportaram que a invasão bacteriana dos tecidos periodontais é um achado comum em casos de periodontite (Fives- Taylor *et al.*, 1995). Um patógeno periodontal deve, de facto, possuir factores de virulência que lhe permitam colonizar o ambiente, resistir às defesas do hospedeiro e causar destruição tecidual (Slots, 1986). As bactérias podem contribuir para a doença periodontal através de danos directos sobre os tecidos, através de toxinas, enzimas ou produtos metabólicos e podem também actuar indirectamente, desencadeando respostas mediadas pelo hospedeiro, que causam destruição tecidual. As toxinas bacterianas dividem-se em endotoxinas e exotoxinas. As exotoxinas, como a leucotoxina e epiteliotoxina, são libertadas pelos organismos no ambiente circundante, onde provocam danos teciduais directos. As endotoxinas são lipopolissacáridos (LPS), componentes da membrana das bactérias Gram- (Listgarten, 1987).

O LPS é constituído pelo lípido A, antígeno O e um oligossacárido, que os mantém associados. É o lípido A que desencadeia a resposta inflamatória, é um potente activador do sistema imune inato, através de receptores tipo Toll, com efeitos em diversos tipos celulares, como macrófagos, linfócitos, fibroblastos e osteoblastos/osteoclastos. A activação do seu receptor, CD14, presente em monócitos/macrófagos ou em forma solúvel, activa os monócitos e as células endoteliais, levando a secreção de moléculas pró-inflamatórias, como interleucina 1 β (IL-1 β), TNF α e PgE₂ (Page, 1995; Bascones- Martínez *et al.*, 2009). O LPS pode inibir a quimiotaxia dos PMNs para os locais de infecção, o que permite a colonização e previne a eliminação dos patogéneos (Listgarten, 1987; Van Dyke *et al.*, 1993).

Devido ao seu papel no desenvolvimento da doença periodontal é necessário compreender de que modo se processa a invasão tecidual pelos patogéneos mais agressivos.

A P.g. é reconhecida como factor etiológico *major* da periodontite do adulto, assumindo um papel importante na iniciação e progressão da doença (Weinberg, 1997; Amano, 2003). É um bastonete Gram- anaeróbio, imóvel com características funcionais e estruturais, que lhe permitem colonizar o sulco gengival e a bolsa periodontal, sobrevivendo facilmente em ambientes hostis (Travis, 1997). A P.g. apresenta três factores de virulência *major*: cápsula constituída por LPS, fímbrias na superfície e actividade proteolítica, que contribuem para a destruição tecidual (Dahlén, 1993; Travis, 1997; Weinberg, 1997; Ezzo & Cutler, 2003; Brunner *et al.*, 2010). A sua cápsula impede a adesão dos fibroblastos do ligamento periodontal à superfície dentária e confere resistência contra a fagocitose (O'Brien- Simpson, 2004). As fímbrias têm capacidade de adesão a componentes salivares, bactérias comensais e a uma variedade de células do hospedeiro, como macrófagos, células epiteliais e fibroblastos (Lamont & Yilmaz, 2002; Amano, 2003). Estão também envolvidas na internalização bacteriana pela activação e mobilização do citoesqueleto das células epiteliais. Desencadeiam elevadas respostas de imunoglobulinas A e G (IgA e IgG), sobretudo de IgG₃ em indivíduos com periodontite crónica e agressiva (Ezzo & Cutler, 2003; O'Brien- Simpson, 2004). A actividade proteolítica da P.g. é exercida por enzimas tipo tripsina, destacando-se as proteases específicas da arginina e da lisina, designadas também por *gingipains* R e K, respectivamente (Travis, 1997; Ezzo & Cutler, 2003). Estas proteases apresentam como função *major* a aquisição de nutrientes, através da degradação de proteínas em péptidos, tendo capacidade de hidrolizar ligações peptídicas nos resíduos

de lisina e arginina, Lys-X e Arg-X (Travis, 1997; Ezzo & Cutler, 2003; O'Brien-Simpson, 2004). Estas enzimas contribuem significativamente para a virulência bacteriana através dos seguintes mecanismos: degradação directa ou indirecta dos tecidos periodontais; atenuação das defesas do hospedeiro; desregulação das cascatas proteolíticas da coagulação sanguínea; libertação de ferro, através das suas proteínas transportadoras e providenciam pequenos péptidos e aminoácidos essenciais ao crescimento bacteriano (Travis, 1997). A P.g. provoca atenuação da actividade bactericida do complemento, devido à degradação dos componentes C3, C4, C5, factor B e D pelas suas enzimas (Potempa & Travis, 1996; Ezzo & Cutler, 2003; Krauss, 2010). Consequentemente, a deposição de opsoninas ou do complexo de ataque à membrana na superfície dos patogéneos é suprimida, prevenindo a opsonização de bactérias e a sua destruição por neutrófilos (Ezzo & Cutler, 2003). A *gingipain* R é a protease *major* que afecta o complemento (Potempa & Travis, 1996; Ezzo & Cutler, 2003). Verifica-se também que a sua presença e actividade na bolsa periodontal contribui para a tendência hemorrágica, o que providencia, através da libertação de hemoglobina pelos eritrócitos, uma fonte rica de heme e ferro, importantes factores de crescimento da P.g. (Weinberg, 1997; Travis, 1997).

O A.a. é um coco-bacilo Gram- fermentativo, que expressa diversos factores de virulência (Guthmiller *et al.*, 2001). As suas fímbrias desempenham um papel importante na invasão das células epiteliais (O'Brien-Simpson, 2004). A adesão do A.a. a estas células leva à eliminação de microvilosidades e formação de pequenas aberturas da membrana celular, que permitem a sua entrada (Lamont & Yilmaz, 2002). Os seus factores de virulência incluem ainda toxinas, que promovem a destruição tecidual, como leucotoxina e epiteliotoxina. Estas enzimas promovem distensão do citoesqueleto e indução da apoptose (Nishihara & Koseki, 2004). A leucotoxina pertence a uma família de toxinas bacterianas formadoras de poros (Ezzo & Cutler, 2003; O'Brien-Simpson, 2004). Esta diminui o potencial bactericida de macrófagos e neutrófilos e induz a desgranulação dos últimos nos locais de inflamação, com consequente libertação de uma grande variedade de proteínases: metaloproteínases da matriz (MMPs), elastase, catepsina G e proteínase 3, que promovem a degradação do tecido conjuntivo (Potempa & Travis, 1996; Ezzo & Cutler, 2003). Em elevadas concentrações, esta toxina liga-se a células não específicas, formando poros nas suas membranas, que permitem o influxo rápido de cálcio e perda de trifosfato de adenosina (ATP), com consequente necrose celular. Em baixas concentrações, a leucotoxina liga-

se a receptores celulares específicos, induzindo a formação de poros de menores dimensões, o que permite um fluxo não regulado de cálcio e a activação de apoptose (O'Brien- Simpson, 2004). Pacientes com periodontite juvenil localizada exibem níveis significativamente elevados de anticorpos específicos para o A.a., especialmente contra a leucotoxina. O A.a encontra-se também associado a casos de periodontite crónica (Slots & Listgarten, 1988; Dahlén, 2003). Outro aspecto importante desta bactéria é o seu LPS, que permite aumentar a sua virulência ao estimular a libertação $IL-1\beta$ e $TNF\alpha$ pelos macrófagos, conduzindo a reabsorção óssea. Segundo Saglie e colaboradores, o LPS é o factor de virulência *major*, que permite a invasão do tecido conjuntivo (Slots & Listgarten, 1988). Esta bactéria produz outros factores imunossupressores, como o antigénio 8-kDa, que inibe a proliferação de fibroblastos, monócitos e osteoblastos (O'Brien- Simpson, 2004). O A.a. apresenta 5 serótipos distintos, mas a maior parte dos indivíduos apresenta um único serótipo, que permanece estável durante anos (Rylev & Kilian, 2008). As cadeias de serótipo B produzem grandes quantidades de leucotoxina e é o serótipo predominante em casos de periodontite (Ezzo & Cutler, 2003; O'Brien- Simpson, 2004). A identificação de variações genéticas específicas do A.a. em formas particulares da doença, sugere que se trata de um microrganismo de elevado risco (Ezzo & Cutler, 2003). O A.a apresenta resistência contra a erradicação mecânica, no entanto pode ser eliminado com sucesso através da combinação de procedimentos mecânicos/cirúrgicos e regimes antibióticos, cuja utilização deve ser baseada num diagnóstico microbiológico (Slots & Listgarten, 1988; Dahlén, 2003).

O T.d. é uma espiroqueta pertencente ao complexo vermelho, Gram- anaeróbia, móvel com morfologia helicoidal. A sua principal diferença em relação aos outros patogéneos periodontais é o facto de ser móvel, verificando-se que os componentes flagelares apresentam capacidade de adesão as células do hospedeiro, através da ligação à fibronectina (O'Brien- Simpson, 2004). Um antigénio *major* do T.d. é a proteína da membrana externa 53-kDa, que apresenta capacidade de ligar ao fibrinogénio, fibronectina e laminina, permitindo adesão às células do hospedeiro (Ding, 1996; O'Brien- Simpson, 2004). A proteína 53k-Da possui função de adesina e porina e estimula a libertação de elastase e catépsina G pelos PMNs. Estas enzimas participam na activação de MMPs, que causam destruição dos tecidos (Sela, 2001). O T.d. produz também enzimas com actividade proteolítica, sendo a dentilisina a melhor caracterizada. Esta possui capacidade de degradar o fibrinogénio, transferrina, gelatina, albumina, laminina, colagénio tipo IV, IgA e IgG, bradiquinina, substância P e inibidores das

proteases do hospedeiro, como antiquimiotripsina $\alpha 1$, antitripsina α , macroglubulina e cistatina C (Sela, 2001; O'Brien- Simpson, 2004). O T.d. exerce efeitos citopáticos nos fibroblastos gengivais, células epiteliais, linfócitos e eritrócitos (Sela, 2001). A sua actividade contribui para uma degradação desregulada dos tecidos periodontais e progressão da doença (Noiri *et al.*, 2001; O'Brien- Simpson, 2004).

A T.f. é uma bactéria Gram- fusiforme, sacarolítica, anaeróbia e difícil de cultivar, o que justifica a menor quantidade de informação existente a seu respeito. Esta bactéria produz enzimas proteolíticas, como proteases- serina tipo tripsina, cuja actividade se relaciona com os parâmetros clínicos da doença. Tem capacidade de degradar os inibidores das proteases do hospedeiro e lactoferrina. Estas enzimas intervêm na ligação da bactéria aos eritrócitos, PMNs e fibroblastos (O'Brien- Simpson, 2004).

A T.f., P.g., e T.d. colonizam os tecidos de forma simbiótica e originam biofilmes em localizações com doença activa. Estas espécies surgem com maior frequência e em maior quantidade em bolsas periodontais profundas (Mineoka, 2008).

4. Imunologia da periodontite

4.1 A imunidade inata

A doença periodontal constitui um desafio distinto para o sistema imune do hospedeiro em termos de diversidade, quantidade e virulência dos patógenos periodontais (Garlet, 2010). A defesa do hospedeiro contra microrganismos patogénicos faz-se através de dois componentes fundamentais: a imunidade inata e a adquirida (Takeda & Akira, 2005; Bascones- Martínez *et al.*, 2009).

O sistema imune inato compreende células migratórias, como macrófagos e neutrófilos, tal como proteínas anti-microbianas como lisozima, lectina e proteínas do complemento, funcionando sem que exista contacto anterior com o agente patogénico (Zasloff, 2002; Lindhe, 2005). As barreiras físicas impostas pelas células epiteliais representam também mecanismos de defesa inata (Lindhe, 2005). O epitélio forma uma barreira protectora através da sua integridade arquitectónica única e produção de péptidos anti-microbianos, com largo espectro de actividade contra bactérias Gram+ e Gram-, fungos e alguns vírus (Ji *et al.*, 2007). O sistema inato permite ao hospedeiro desenvolver uma resposta imediata à presença de patógenos. Contudo, o sucesso da

defesa contra bactérias pode exigir diferentes respostas dependendo da estrutura, comportamento e virulência bacteriana (Tietze *et al.*, 2006).

Supunha-se que a imunidade inata estava relacionada com o desenvolvimento de respostas imunes inespecíficas, como consequência da ingestão e digestão de microrganismos e corpos estranhos por macrófagos e neutrófilos. Porém, actualmente sabe-se que a imunidade inata apresenta uma especificidade notável graças a um sistema de receptores tipo Toll (Dixon *et al.*, 2004; Takeda & Akira, 2005; Mahanonda & Pichyangkul, 2007). Estes receptores pertencem a uma família de proteínas ricas em leucina e são expressos na superfície ou em compartimentos intracelulares de células inflamatórias (Gelani *et al.*, 2010). No ser humano foram identificados dez tipos destes receptores, que são expressos por uma variedade de tipos celulares, incluindo monócitos, células endoteliais, fibroblastos, osteoblastos e células dendríticas (Dixon *et al.*, 2004; Kinane *et al.*, 2007; Mahanonda & Pichyangkul, 2007). Os tipos 1, 2, e 4 são expressos na superfície celular, enquanto os tipos 3, 7, 8 e 9 são expressos em compartimentos intracelulares (Takeda & Akira, 2005). Os neutrófilos expressam receptores tipo Toll-1, 2, e 10, os macrófagos/monócitos, por sua vez expressam receptores tipo Toll-1, 2, 4 e 8 (Mahanonda & Pichyangkul, 2007). Estes receptores permitem que as células de defesa do hospedeiro identifiquem e respondam diferentemente a bactérias Gram+ e Gram-. Permitem simultaneamente, a distinção entre bactérias patogénicas e comensais, com desenvolvimento de uma resposta selectiva e apropriada (Dixon *et al.*, 2004). Assim, assegura-se poliespecificidade no sistema imune inato, o que permite uma resposta rápida com um número relativamente pequeno de células efectoras munidas de um conjunto de receptores, que permitem a identificação de padrões microbianos distintos. Adicionalmente, este reconhecimento e resposta ocorrem sem que seja necessária uma expansão clonal de células adaptativas especializadas com receptores altamente específicos (Dixon *et al.*, 2004).

Após a activação destes receptores é estimulada uma cascata de sinalização intracelular, que promove a activação de factores de transcrição e subsequente expressão de citocinas inflamatórias, que iniciam respostas críticas na indução da imunidade adaptativa, migração de leucócitos e osteoclastogénese (Mahanonda & Pichyangkul, 2007; Garlet, 2010). A ligação aos receptores tipo Toll inicia a interacção entre domínios do receptor Toll-IL-1 e moléculas adaptadoras citoplasmáticas. A proteína de resposta primária de diferenciação mieloide (MyD88), uma molécula adaptadora chave, é usada pela maioria dos receptores tipo Toll. Esta proteína medeia a

via de sinalização dos receptores tipo Toll, que activa o receptor de Il-1 associado a quinase. Este, por sua vez associa-se ao receptor do factor de necrose tumoral associado ao factor 6, que leva à activação de duas vias de sinalização distintas. Uma das vias leva à activação da proteína activadora-1, através da activação da proteína quinase activada por mitógeno. A outra via activa o complexo formado pela proteína quinase activada β e proteína de ligação à quinase, ambas activadas pelo factor transformador de crescimento β (TGF β). Um vez activado, este complexo fosforila e induz a degradação do inibidor do factor nuclear κ B e liberta este factor, que se transloca para o núcleo e induz a expressão de citoquinas. As cascatas de sinalização dos receptores tipo Toll dividem-se assim em dois grupos: a via dependente da MyD88 e a via independente desta proteína (Mahanonda & Pichyangkul, 2007).

Perturbações na defesa inata do hospedeiro permitem o desenvolvimento de doença inflamatória crónica e influenciam a sua severidade (Dixon *et al.*, 2004).

4.1.1 Recrutamento e função dos neutrófilos

Os PMNs são células fundamentais do sistema de defesa inato, representando os fagócitos mais importantes na defesa do hospedeiro contra a infecção bacteriana aguda (Hart *et al.*, 1994). Os neutrófilos formam uma barreira entre o biofilme bacteriano e o epitélio, o que na maior parte dos casos previne o epitélio e o tecido conjuntivo subjacente da invasão bacteriana (Newman & Addison, 1982; Gemmell *et al.*, 2007). Não actuam sozinhos, fazem parte do eixo neutrófilo- anticorpos- complemento, que exerce um papel protector contra microrganismos Gram- importantes no desenvolvimento da doença periodontal (Hart *et al.*, 1994). Estas células podem controlar bactérias potencialmente patogénicas, modificando a colonização bacteriana, influenciando o crescimento bacteriano ou através de actividade bactericida.

O recrutamento de leucócitos para áreas lesadas é fundamental para uma defesa eficiente e a sua migração constante para essas localizações permite que todo o reportório do sistema imune proteja o hospedeiro contra uma variedade de desafios antigénicos. A resposta dos PMNs desenvolve-se segundo uma rede complexa de actividades, que inclui aderência, quimiotaxia, fagocitose e actividade microbicida (Van Dyke & Hoop, 1990; Hart *et al.*, 1994). O recrutamento para o sulco é feito por factores quimiotáticos de origem bacteriana ou resultantes da activação do sistema complemento, que constituem estímulos conducentes a um movimento polarizado

destas células (Van Dyke & Hoop, 1990; Miller *et al.*, 2005). Citoquinas pró-inflamatórias induzem a expressão de moléculas de adesão na superfície de células endoteliais, como a molécula de adesão endotelial-1 dos leucócitos (ELAM-1) e a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), que permitem a interacção e ligação dos neutrófilos às células endoteliais (Kinane & Lappin, 2002; Seymour, 2007). A migração de neutrófilos da circulação para os tecidos mostrou ser inibida pela supressão da expressão da molécula de adesão E-selectina nas células endoteliais e pela inibição da produção celular epitelial de interleucina-8 (Il-8), que é um potente factor quimiotático (Gemmell *et al.*, 2007).

Após o recrutamento para o local de infecção, os PMNs destroem as bactérias segundo um processo de fagocitose. (Van Dyke & Hoop, 1990; Seymour *et al.*, 1993; Bascones- Martínez *et al.*, 2009) A opsonização é um processo fundamental para a fagocitose, pois permite que as bactérias se tornem reconhecíveis pelos neutrófilos, através de receptores de imunoglobulinas e produtos do complemento existentes na superfície destas células. Este processo é alcançado através de interacções entre as opsoninas IgG e C3b com os seus receptores localizados nos neutrófilos (Hart *et al.*, 1994). Após o reconhecimento, os microrganismos são fagocitados, o que significa que são “ingeridos” e incluídos em vesículas designadas fagossomas (Miller *et al.*, 2005). Este processo de ingestão é um processo activo, dependente de energia. O citoplasma dos PMNs caracteriza-se pela presença de elevado conteúdo de glicogénio e grânulos lisossómicos, que se classificam em primários ou azurófilos, secundários ou específicos e terciários. Os grânulos azurófilos contêm mieloperoxidase, lisozima e uma variedade de proteínases neutras e enzimas hidrolíticas. Os grânulos específicos são mais numerosos e são ricos em lisozima, collagenase e lactoferrina (Van Dyke & Hoop, 1990; Miller *et al.*, 2005). Os grânulos terciários são um subtipo dos grânulos secundários e contêm fosfatase alcalina e citocromo b37 (Van Dyke & Hoop, 1990). Após a ingestão das bactérias opsonizadas, os grânulos primários e secundários fundem com o fagossoma, formando um fagolisossoma, para o interior do qual libertam o seu conteúdo (Van Dyke & Hoop, 1990; Miller *et al.*, 2005). A destruição bacteriana pode ser dependente ou independente de oxigénio. Os mecanismos de destruição independentes de oxigénio envolvem a acção da lisozima, lactoferrina e diversas proteases (Genco & Slots, 1984; Van Dyke & Hoop, 1990). A lisozima contribui não apenas na actividade fagocitária, mas a sua libertação promove a agregação e aglutinação microbiana, afectando o crescimento bacteriano. A lactoferrina contribui para a destruição

bacteriana, através da competição pelo ferro, elemento essencial para o crescimento bacteriano (Fine & Mandel, 1986; Lamster *et al.*, 1991; Ozmeric, 2004). Os mecanismos de destruição bacteriana dependentes de oxigénio podem ser dependentes ou independentes de mieloperoxidase (Van Dyke & Hoop, 1990). A resposta oxidativa dos neutrófilos resulta na transformação do oxigénio e peróxido de hidrogénio em radicais livres, ou espécies oxigénio-reactivas, como o ião superóxido e radicais hidroxilo. Enzimas citoplasmáticas protegem as estruturas intracelulares destes radicais livres, como a superdismutase, que converte o ião superóxido em peróxido de hidrogénio, que através da catalase é convertido em água. Estes mecanismos permitem neutralizar patogéneos em diferentes ambientes (Van Dyke & Hoop, 1990).

A importância dos PMNs na doença periodontal é ilustrada pelo facto de que defeitos qualitativos, quantitativos, congénitos e induzidos por drogas estão associados a destruição acentuada dos tecidos periodontais (Lamster *et al.*, 1991; Van Dyke *et al.*, 1993; Bascones- Martínez *et al.*, 2009). A função protectora dos neutrófilos é também evidenciada pelo facto de que pacientes com desordens sistémicas associadas aos neutrófilos, incluindo a síndrome de Chédiak-Higashi e neutropénia cíclica, apresentam frequentemente doença periodontal severa, que não é consistente com a idade ou factores locais aparentes (Newman & Addison, 1982; Hart *et al.*, 1994). A maior parte dos PMNs de pacientes com periodontite apresentam alterações degenerativas, incluindo aumento de volume nuclear e podem conter lisossomas residuais com bactérias, que embora “ingeridas” não sofreram lise. Alguns autores sugeriram também que PMNs de pacientes com periodontite apresentam um maior tempo de migração para a bolsa periodontal, estando expostos a factores locais bacterianos por um período de tempo superior, o que resulta numa perda significativa de função (Newman & Addison, 1982).

Para além da sua função protectora contra invasão bacteriana, os PMNs são também responsáveis por destruição dos tecidos periodontais. A associação entre a libertação de enzimas lisossómicas e a ocorrência de destruição tecidual está bem documentada. Existem dois mecanismos principais através dos quais se efectua a libertação enzimática: libertação relacionada com a fagocitose e secreção. Ambos os mecanismos dependem da fusão do lisossoma com a membrana plasmática. As proteínases neutras são os mediadores mais importantes dos efeitos extracelulares dos neutrófilos. Estas incluem a elastase, catepsina G e collagenase. A collagenase degrada o colagénio, produzindo fragmentos, que serão degradados pela elastase ou outras

enzimas e a sua actividade está mais relacionada com a profundidade da bolsa, do que com a severidade da inflamação, o que reflecte a sua actividade destrutiva sobre os tecidos periodontais. Adicionalmente a estas substâncias, as hidrolases ácidas, catepsina B e D podem atacar proteínas nativas, como a hemoglobina e albumina. Subsequentemente ao dano tecidual causado pela libertação das enzimas lisossómicas, ocorre agregação plaquetária com a formação de trombos. A obstrução vascular causada leva a isquémia e necrose (Hart *et al.*, 1994). Para além da libertação destas enzimas, as espécies oxigénio reactivas resultantes da actividade dos PMNs podem contribuir para o processo patológico pela inactivação de inibidores de proteases e causar activação adicional, que resulta em maior dano tecidual (Lamster *et al.*, 1991).

4.1.2 Papel dos macrófagos

Os macrófagos são células amplamente distribuídas e desempenham um papel indispensável na homeostasia e defesa do organismo (Bhatavadekar & Williams, 2009). Derivam dos monócitos circulantes e desempenham funções de fagocitose e síntese, constituindo cerca de 5 a 30% do infiltrado celular nas lesões periodontais (Okada & Murakami, 1998; Lindhe, 2005).

Os monócitos e os seus derivados, os macrófagos são activados por estímulos bacterianos, como LPS, ácido lipoteicóico e fímbrias, e secretam grande variedade de mediadores, destacando-se a $IL-1\beta$, o $TNF\ \alpha$ e PgE_2 , com relevância na destruição periodontal (Van Dyke *et al.*, 1993; Ozmeric, 2004).

Estudos *in vitro* demonstraram que os macrófagos produzem $IL-1$, $IL-6$, $IL-10$, $IL-12$, $IL-13$, $TNF-\alpha$ e interferão γ ($IFN\ \gamma$). Estas células desempenham um papel central na produção de $IL-1$ nos locais infectados, sendo a forma β a mais produzida. (Okada & Murakami, 1998) A principal fonte celular de $TNF\ \alpha$ são os macrófagos. A sua produção ocorre após a estimulação com LPS e é aumentada com co-estimulação de $IFN\ \gamma$. Devido ao seu número reduzido é improvável que os macrófagos sejam a principal fonte de PgE_2 . Contudo, a produção de outros mediadores, como $IL-1\beta$ e $TNF\ \alpha$ pelos monócitos pode desencadear a produção de PgE_2 pelos fibroblastos gengivais ou do ligamento periodontal (Van Dyke *et al.*, 1993).

Garrison e Nichols foram os primeiros a colocar a hipótese de que a função de monócitos pode predispor os indivíduos a destruição periodontal. Estes autores demonstraram que os monócitos da circulação periférica de pacientes com casos de

periodontite severa libertam maior quantidade de PgE_2 em resposta ao LPS, do que os monócitos de indivíduos não susceptíveis à doença. McFarlane e colaboradores verificaram também que monócitos de pacientes com periodontite produzem maior quantidade de $\text{IL-1}\beta$ e $\text{TNF } \alpha$ (Van Dyke *et al.*, 1993).

4.1.3 Função do sistema complemento

O complemento é constituído por uma rede complexa de proteínas plasmáticas e associadas à membrana, que pode desencadear respostas imunes citolíticas e inflamatórias altamente eficientes e reguladas contra os organismos infecciosos. Este conjunto de proteínas está organizado numa hierarquia de cascatas proteolíticas, que são activadas através da identificação de patógenos e permitem a produção de potentes mediadores pró-inflamatórios, opsonização e lise de microrganismos invasores (Dunkelberger & Song, 2010). Algumas bactérias são destruídas pela inserção de um complexo de proteínas do complemento na parede celular, complexo de ataque à membrana e a lise ocorre na presença de um lisossoma. Noutras espécies bacterianas alguns factores do complemento, como C3b são importantes para opsonização e fagocitose. Os componentes C3b e C4b , pela opsonização de microrganismos na presença de anticorpos específicos, aumentam a eficiência da fagocitose, através de receptores de superfície do complemento nos neutrófilos e macrófagos (Schenkein, 1991; Van Dyke *et al.*, 1993).

O complemento permite a atracção de fagócitos para o local de inflamação. C5a é um potente factor quimiotático de neutrófilos e macrófagos e pode amplificar a resposta inflamatória. Reage com receptores específicos nos leucócitos para aumentar a migração de neutrófilos e estimular metabolismos oxidativos, desgranulação e aderência. Assim, pode considerar-se que as bactérias podem activar o complemento e pôr em marcha uma série de eventos moleculares, levando a bacteriólise ou atracção de células fagocitárias, que reconhecem e destroem microrganismos (Genco, 1984; Schenkein, 1991).

A activação do complemento constitui uma das primeiras respostas imunes no fluido gengivo-crevicular (Bascones- Martínez *et al.*, 2009). A sua activação pode ocorrer segundo duas vias: clássica e alternativa (Schenkein, 1991; Van Dyke *et al.*, 1993; Bascones- Martínez *et al.*, 2009; Dunkelberger & Song, 2010; Hajishengallis, 2010). A via clássica é activada através de complexos imunes antígeno- anticorpo, que

se ligam e activam sequencialmente séries de proteínas. A via alternativa é activada através de estruturas de superfície de microrganismos, como o LPS (Schenkein, 1991; Bascones- Martínez *et al.*, 2009). A produção de C3 convertase, que cliva C3 na anafilotoxina C3a e na opsonina C3b, é o ponto para o qual as cascatas de activação do complemento convergem. Após a clivagem de C3, os componentes de acção tardia do complemento, C5-9, são activados, o que resulta na formação de complexos de ataque à membrana e lise das células alvo (Van Dyke *et al.*, 1993). A via clássica pode ser activada pela ligação de IgG ou IgM à superfície celular ou a antígenos solúveis, resultando na ligação do componente C1q, subcomponente do complexo trimolecular C1. Tal, provoca a activação de C1 com proteólise interna de 2 outros subcomponentes, C1r e C1s e a iniciação da cascata do complemento. C4 e C2 funcionam como substratos para o subcomponente C1s. Estas moléculas são clivadas e os seus fragmentos *major* associam-se para formar C4bC2a na superfície dos patógenos, o complexo ganha capacidade de clivar o componente C3 e é designado de C3 convertase (Schenkein, 1991; Dunkelberger & Song, 2010). A via alternativa não requer anticorpos para a sua activação e está constantemente a ser activada (Van Dyke *et al.*, 1993). A forma nativa do componente C3 no plasma é hidrolisada, resultando numa alteração da sua conformação, que confere à molécula propriedades que permitem a sua participação na via alternativa. Particularmente, C3(H₂O) liga-se ao factor B da via alternativa, que pode ser ele próprio clivado pelo factor D. O fragmento clivado Bb do factor B associa-se a C3(H₂O) para formar uma enzima de clivagem de C3 com actividade análoga à C3 convertase da via clássica. Assim, o componente C3 nativo é clivado para formar C3a e C3b (Schenkein, 1991; Dunkelberger & Song, 2010; Hajishengallis, 2010).

Segundo alguns autores, existe uma terceira via de activação do complemento: a via da lectina (Dunkelberger & Song, 2010; Hajishengallis, 2010). Esta via é activada através de uma interacção entre receptores de reconhecimento de padrões, como a lectina de ligação à manose e ficolinas, com grupo específico de carboidratos, na superfície de uma variedade de microrganismos. Estes receptores focam-se em estruturas presentes em largos grupos de microrganismos, popularmente referidos como padrões moleculares associados a patógenos, como endotoxinas, LPS de bactérias Gram- e ácido lipoteicoico de bactérias Gram+. Semelhante ao complexo C1 da via clássica, a MBL forma um complexo com proteases serinas associadas a MBL (MASPs 1,2,3), que são funcional e estruturalmente similares aos componentes C1s e C1r. A

ligação da MBL às superfícies patogénicas leva à activação das MASP_s, clivagem de C2 e C4 e produção de C3 convertase (Dunkelberger & Song, 2010).

Os fragmentos activos do complemento estão presentes no fluido gengivo-crevicular de pacientes com periodontite, estando presentes em baixas concentrações ou mesmo ausentes em indivíduos saudáveis (Hajishengallis, 2010). Todas as vias convergem para o terceiro componente do complemento, C3, que após activação por C3 convertases específicas das vias, leva a produção de moléculas efectoras, nas quais se incluem as anafilotoxinas C3a e C5a, que activam receptores específicos acoplados às proteínas G (C3aR e C5aR) e medeiam a mobilização e activação de leucócitos. São também importantes as opsoninas C3b e iC3b, que promovem a fagocitose através dos receptores do complemento, CR1 e Cr3 e o complexo de ataque a membrana C5b-9, que executa a lise de patógenos identificados (Hajishengallis, 2010). O desenvolvimento do complexo de ataque à membrana ocorre quando C3b, após a sua deposição na superfície celular, se associa com C3 convertases das 3 vias para formar C5 convertases: C4bC2aC3b da via da lectina e clássica e CebBbC3b da via alternativa. As C5 convertases são pontos de paragem para a activação terminal do complemento e clivam C5 nas anafilotoxinas C5a e C5b. A libertação de C5b expõe um local de ligação para C6 e o complexo C5bC6 liga-se reversivelmente na superfície de patógenos identificados e forma a base molecular do complexo de ataque à membrana. C7 associa-se com C5bC6, criando C5b-7 que está integrado na bicamada fosfolípídica do patógeno e induz a inserção de C8 α e C8 β na membrana, que levam ao desenvolvimento de poros. C9 liga-se a C8 α e inicia a polimerização de múltiplas moléculas de C9 para formar poros com diâmetro máximo de 10nm. Este complexo C5b-9 forma o complexo de ataque à membrana. A actividade lítica deste complexo caracteriza-se por um aumento rápido da concentração de cálcio, seguindo-se perda de polaridade mitocondrial e de *pools* de nucleótidos de adenina (Dunkelberger & Song, 2010).

Devido à sua natureza destrutiva para os tecidos periodontais, a activação do complemento é altamente regulada por proteínas solúveis e ligadas à membrana. Esta regulação ocorre principalmente a 2 níveis dentro das cascatas: ao nível da produção e actividade das convertases e ao nível do desenvolvimento do complexo de ataque à membrana (Dunkelberger & Song, 2010). Os reguladores ligados à membrana incluem o factor acelerador de degradação (DFA), que acelera a degradação de C3 e C5 convertases, tal como a proteína co-factor de membrana CD46 e o receptor 1 do

complemento, CR1. Em associação com a protease de fase fluida factor I, CD46 e CR1 intervêm na degradação de C3b e C4b, o último dos quais é necessário para a formação da C3 convertase da via da lectina e clássica. A proteína circulante de ligação a C4b, C4BP, é outro co- factor do factor I, acelera a degradação das convertases da via da lectina e clássica, enquanto o inibidor de C1 é um inibidor solúvel importante na via da lectina e clássica. As células do hospedeiro estão protegidas da lise do complexo de ataque à membrana através de uma proteína reguladora ligada à membrana, CD59, que inibe o passo terminal da formação deste complexo. Um regulador importante de fase fluida é o factor H que controla a via alternativa, inibindo a formação e acelerando a degradação da C3 convertase da via alternativa. Este factor contribui também para a clivagem e inactivação de C3b a ic3b e inibição da formação e amplificação de C5 convertase. O factor H parece ligar-se directamente a C5 (Dunkelberger & Song, 2010).

Além da função de defesa, a activação do complemento provoca destruição tecidual, devido ao influxo de células fagocitárias, libertação de enzimas lisossómicas e produção de citocinas por macrófagos e linfócitos (Fine & Mendel, 1986; Hajishengallis, 2010).

4.2 A imunidade adaptativa

A resposta adaptativa inicia-se com o reconhecimento de patógenos putativos por células apresentadoras de antígenos (Garlet, 2010). As células envolvidas na resposta imune adaptativa são os linfócitos, que se dividem em dois grupos principais: linfócitos T e linfócitos B, ambos com capacidade de interagir e responder a estímulos estranhos. Os principais componentes da imunidade celular são os linfócitos T, que reconhecem antígenos processados e apresentados por células apresentadoras de antígenos no contexto do complexo *major* de histocompatibilidade (CMH) (Mathur & Michalowicz, 1997). As células B, responsáveis pela resposta imune celular, são essencialmente produtoras de anticorpos (Berglundh *et al.*, 2007).

4.2.1 A resposta imune celular- papel dos linfócitos T

As células T são dominantes na resposta mediada por células e são necessárias para produção de anticorpos e activação policlonal de células B. Estas células dividem-se funcionalmente em T *helper*, T supressoras, T reguladoras e T citotóxicas (Hourihaddad *et al.*, 2007).

As células T supressoras auxiliam a regulação da resposta imune através da libertação de mediadores regulatórios ou citocinas. As células T citotóxicas (T CD8⁺) têm capacidade de destruir outras células através de interacções célula- célula. As células T reguladoras procuram evitar a destruição periodontal, considerando que em lesões periodontais estabelecidas, estas células podem ser recrutadas para as lesões na tentativa de suprimir a destruição, através de mecanismos putativos auto-imunes, segundo um sistema de feedback negativo (Hourí- Haddad *et al.*, 2007).

Os linfócitos T *helper* (T CD4⁺) são uma arma importante da imunidade adaptativa. Estas células podem diferenciar-se em 2 subtipos de células efectoras: células T *helper* 1 (Th₁) e T *helper* 2 (Th₂), com base no seu padrão de produção de citocinas. As respostas imunes mediadas pelas células Th₁ são caracteristicamente celulares e pró-inflamatórias, enquanto as de Th₂ estão relacionadas com a imunidade humoral e propriedades anti-inflamatórias (Seymour *et al.*, 1993; Yamamoto, 1997; Taubman, 2005; Han *et al.*, 2007; Hourí- Haddad *et al.*, 2007; Garlet, 2010).

As células Th₁ produzem principalmente Il-2, TNF α e IFN γ , enquanto as células Th₂ produzem Il-4, Il-5, Il-10 e Il-13. As citocinas produzidas pelas Th₁ regulam negativamente o desenvolvimento e função das células B, promovem a activação de macrófagos e suportam a alteração de imunoglobulinas para IgG_{2a}. As citocinas produzidas pelas células Th₂ regulam positivamente a actividade das células B, suportam a produção de anticorpos e promovem a comutação de imunoglobulinas para o isótopo IgG₁ (Van Dyke *et al.*, 1993; Górska *et al.*, 2003; Han *et al.*, 2007; Hourí- Haddad *et al.*, 2007).

O equilíbrio entre os fenótipos Th₁ e Th₂ determina o sucesso da resolução da inflamação (Mathur & Michalowicz, 1997; Johnson & Serio, 2005; Hourí- Haddad *et al.*, 2007; Garlet, 2010). Uma resposta forte e contínua de Th₁ manteria actividade anti-bacteriana e limitaria o processo da doença. Se existisse predomínio de uma resposta de células Th₂, o infiltrado celular caracterizar-se-ia pelo aumento de células B e da produção de anticorpos. O aumento da actividade anti-bacteriana pode eliminar as bactérias, mas se os anticorpos produzidos não forem efectivos na eliminação das bactérias, a doença progride (Mathur & Michalowicz, 1997). Seymour e colegas sugeriram que a susceptibilidade para a progressão da doença periodontal pode envolver predominantemente uma resposta dominada pelas células Th₂, na qual as células T produzem as citocinas necessárias para a proliferação policlonal e diferenciação das células B, levando à produção de elevados níveis de anticorpos não protectores e a

produção contínua de Il-1 β pelas células B. Uma periodontite estável envolve uma resposta dominada por células Th₁, resultando na activação de células T e produção de anticorpos protectores, como resultado da secreção de IFN γ . Contrariamente, outros investigadores sugeriram que a susceptibilidade para a doença periodontal pode envolver uma resposta dominada por Th₁ (Hourí- Haddad *et al.*, 2007; Van Dyke, 2007; Garlet, 2010).

Estudos recentes descreveram um novo subtipo de células T: as células Th₁₇. São células osteoclastogénicas e caracterizam-se pela produção de Il-17, que está relacionada com varias condições auto-imunes e inflamatórias (Garlet, 2010).

Para além das funções descritas, as células T estão envolvidas na destruição óssea através da produção de Il-17, que induz a produção do ligando do receptor activador do factor nuclear κ B (RANKL). A capacidade das células Th₁₇ em produzir Il-6 e regular positivamente a produção de Il-1 β e TNF α , pode amplificar a inflamação, com aumento da expressão de MMPs e RANKL. Supõe-se que este tipo celular exacerba a doença periodontal através da indução da produção de mediadores inflamatórios por células adjacentes. O papel destrutivo das células T relaciona-se também com o subtipo Th₂ também presente nas lesões periodontais. Estudos revelam que a predominância de células Th₂ leva a acumulação de células produtoras de RANKL e consequentemente provoca destruição tecidual. Outra explicação para a destruição causada pelo eixo de células Th₂/B é a produção de anticorpos contra componentes dos tecidos periodontais, como colagéneo, vimentina, espectrina, actina, queratina, tubulina, descrita em indivíduos com periodontite crónica e agressiva (Garlet, 2010).

4.2.2 A resposta imune humoral- papel dos linfócitos B

As células B desenvolvem-se a partir de células estaminais hematopoiéticas, possuem vida longa e capacidade para migrar entre a circulação e os nódulos linfáticos, para participar na resposta imune (Kinane, 2002; Berglundh *et al.*, 2007). Durante a progressão da doença gengivite- periodontite existe uma alteração nas células predominantes, de células T para células B (Kinane, 2002). Está documentado que as células plasmáticas representam cerca de 50% das células existentes nas lesões periodontais, enquanto as células B representam cerca de 18%. As proporções de células

plasmáticas e de células B é maior em lesões associadas a formas severas da doença, do que em lesões de formas moderadas ou ligeiras de doença (Berglundh *et al.*, 2007).

Os patogéneos periodontais possuem componentes com capacidade de induzir a activação das células B policlonais (Van Dyke *et al.*, 1993). A activação destas células ocorre durante a resposta imune específica a antígenos e implica a maturação, proliferação, comutação de isótipo e diferenciação em células plasmáticas produtoras de anticorpos (Van Dyke *et al.*, 1993; Berglundh *et al.*, 2007; Meng *et al.*, 2007).

Os anticorpos ou imunoglobulinas são glicoproteínas produzidas pelos linfócitos B e células plasmáticas, que possuem capacidade específica de ligação a antígenos. O tipo de imunoglobulinas dominantes varia de acordo com a natureza dos antígenos apresentados. Antígenos de natureza proteica induzem uma resposta dominada por IgG₁ e IgG₄, enquanto antígenos de carboidratos desencadeiam respostas mediadas por IgG₂. Factores genéticos também exercem a sua influência, indivíduos afro-americanos apresentam elevados níveis de IgG₂ em comparação com indivíduos caucasianos, em resposta à infecção por A.a. (Bascones- Martínez *et al.*, 2009). A produção de anticorpos, especificamente IgG e IgA é considerada protectora contra a doença periodontal. Elevados níveis destas imunoglobulinas estão associados a formas severas da doença. A presença de anticorpos contra os patogéneos periodontais no fluido gengivo-crevicular foi demonstrada em pacientes com periodontite, com predominância de IgG₁, com menor presença de IgG₂ e ainda menor quantidade de IgG₃ e IgG₄. A IgG₁ e IgG₂ são detectadas em lesões avançadas, sendo a IgG é o isótopo predominante durante infecções bacterianas (Meng *et al.*, 2007; Bascones- Martínez *et al.*, 2009). Estes anticorpos desempenham, inicialmente, um papel protector no sulco gengival pela opsonização e aderência imune e potenciam a fagocitose local (Seymour, *et al.*, 1979). Estudos demonstraram que pacientes com doença periodontal apresentam níveis salivares elevados de IgA. Taubman e colaboradores demonstraram a existência de níveis de IgA e IgG significativamente superiores em pacientes com periodontite do adulto e periodontite juvenil generalizada, comparativamente a pacientes edêntulos ou com saúde periodontal (Genco, 1984).

As células B também participam em muitos outros aspectos da resposta do hospedeiro e contribuem para a activação do sistema imune. Exibem importantes funções imuno-regulatórias, que incluem efeitos directos e indirectos sobre outras células, através da apresentação de antígenos e produção de citocinas (Berglundh *et al.*, 2007).

A função das células B na apresentação de antígenos difere da desempenhada por células apresentadoras de antígenos profissionais, como células de *Langerhans*, macrófagos e células dendríticas. As células B internalizam os antígenos através de um receptor de imunoglobulinas na membrana celular. O antígeno é degradado em péptidos e subsequentemente associado a moléculas da classe II do CMH. O antígeno processado é transportado até à membrana das células B para apresentação a células T *helper*. Neste processo, as células B controlam e seleccionam antígenos para serem apresentados às células T, particularmente, quando a concentração de antígenos é baixa. Esta função resulta, consequentemente, numa resposta imune forte e efectiva contra pequenas quantidades de antígenos. Estudos em animais revelaram que as células B não possuem capacidade de apresentação de antígenos na ausência das moléculas CD154 e CD40. Estudos de Brisslert e colaboradores reportaram a existência de um subtipo funcional e fenotipicamente distinto de linfócitos B. Este grupo de células expressa CD25, o receptor da cadeia α de IL-2, desempenhando funções de apresentação de antígenos superiores às das células B CD25- negativas. Esta diferença pode ser devida à expressão elevada de moléculas co-estimulatórias, CD80 e CD27, nas células B CD25- positivas (Berglundh *et al.*, 2007).

Contudo, além do papel protector, os complexos imunes formados pelas imunoglobulinas podem causar destruição tecidual característica da periodontite (Seymour *et al.*, 1979; Johnson *et al.*, 1980; Van Dyke *et al.*, 1993). As células B activas podem expressar diversos factores osteoclastogénicos, incluindo RANKL, TNF α e IL-6, provocando perda óssea alveolar (Han *et al.*, 2007).

5. A resposta imune e a destruição periodontal

As respostas imunes inflamatórias aos patogéneos periodontais desencadeiam a destruição dos tecidos periodontais, através da activação de mecanismos de reabsorção óssea e produção de proteases, que degradam a matriz extracelular (Kinane, 2001; Garlet *et al.*, 2004). A resposta imune é promovida e regulada parcialmente por citocinas, que representam um grupo de polipéptidos bioactivos produzidos por grande variedade de células e medeiam uma variedade de funções metabólicas e imunológicas (Gemmell & Seymour, 2007; Amano, 2010). Neste grupo está incluída a família de interleucinas, interferões e factor de necrose tumoral (Okada & Murakami, 1998; Amano, 2010). Desempenham um papel importante em numerosas actividades

biológicas incluindo, proliferação, desenvolvimento, diferenciação, homeostase, regeneração, reparação e inflamação. As citocinas conduzem a imunidade inata, afectam a activação de macrófagos e a diferenciação de células T *helper* nos fenótipos Th₁ e Th₂. Podem actuar nas células circundantes (efeito parácrino), em células de outros órgãos (efeito hormonal) e em células secretoras (efeito autócrino) (Van Dyke *et al.*, 1993; Okada & Murakami, 1998). O estímulo para a produção e secreção de citocinas provem de componentes bacterianos, como LPS, indução de citocinas e mediadores inflamatórios, como metabolitos do ácido araquidónico (Van Dyke *et al.*, 1993). Embora as citocinas sejam produzidas pelas células imunocompetentes infiltradas localmente, como células T e monócitos, normalmente as células residentes nos tecidos como fibroblastos, células epiteliais e endoteliais estão também envolvidas na sua produção durante a resposta inflamatória (Okada & Murakami, 1998). Uma produção sem restrições de citocinas pode levar ao início e progressão de certas doenças, o que possibilita o diagnóstico objectivo da severidade da inflamação através da monitorização dos níveis ou tipos de citocinas presentes nas localizações infectadas. Diversos estudos revelaram que os níveis de citocinas no fluido gengivo- crevicular estão associados com a severidade de respostas inflamatórias e/ou destruição periodontal. Uma citocina inflamatória é uma citocina induzida durante o curso da resposta inflamatória e está fortemente associada com o seu início e/ou progressão, como seja a Il-1 α e Il-1 β , Il-6, Il-8 e TNF α . Sendo a perda óssea característica fundamental da periodontite deve prestar-se particular atenção a estas citocinas, devido à sua capacidade de causar reabsorção óssea (Okada & Murakami, 1998).

A Il-1 é um polipéptido com grande número de actividades e papéis na imunidade, inflamação, destruição de tecidos e homeostase. É sintetizada por vários tipos celulares, incluindo macrófagos, monócitos, linfócitos, células vasculares, células cerebrais, células da pele e fibroblastos, sendo os primeiros a principal fonte desta citocina. Estimula a proliferação de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais e aumenta a síntese de procolagénio I, collagenase, hialuronato, fibronectina e PgE₂. A IL-1 β é um potente estimulador da reabsorção óssea (Ozmeric, 2004). A produção local excessiva de Il-1 pelas células do periodonto parece ser capaz de estimular os fibroblastos gengivais e do ligamento de uma forma autócrina ou parácrina, para que estes produzam outras citocinas, enzimas de degradação da matriz e PgE₂, que participam na destruição dos tecidos periodontais (Okada & Murakami, 1998). Masada e colaboradores verificaram a presença de níveis elevados de Il-1, sendo a forma β a

mais comum no fluido gengivo-crevicular de indivíduos com periodontite, existindo uma redução marcada desses níveis após tratamento efectivo (Gemmell & Seymour, 1994; Okada & Murakami, 1998; Ozmeric, 2004; Rescala *et al.*, 2010). Giannopoulou e colegas detectaram níveis mais elevados de interleucina-1 β em indivíduos com periodontite agressiva, comparativamente a indivíduos com periodontite crónica. Porém, Suzuki e colaboradores não detectaram diferenças estatisticamente significativas relativamente a estes níveis (Rescala *et al.*, 2010).

Outra citocina com um papel importante na regulação local e *turnover* ósseo é a Il-6 (Okada & Murakami, 1998). É uma citocina pleiotrópica produzida por vários tipos de células, principalmente por monócitos, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais activadas (Van Dyke *et al.*, 1993; Okada & Murakami, 1998). Estimula a reabsorção óssea e a formação de osteoclastos, directamente ou através da secreção de Il-1 β . Após estimulação, as células B e T e queratinócitos também produzem Il-6. Existem níveis superiores desta citocina nos tecidos gengivais inflamados, comparativamente com tecidos sãos. Pode actuar sinergeticamente com Il-1, Il-3, Il-4 e TNF α (Van Dyke *et al.*, 1993).

A Il-8 é secretada por vários tipos celulares como monócitos, fibroblastos, linfócitos e células endoteliais. Funciona com potente factor quimiotático para os leucócitos e assume um papel importante na patogénese da doença (Van Dyke *et al.*, 1993). Induz extravasamento de neutrófilos no local de inflamação e numerosas células presentes na lâmina própria e no epitélio gengival inflamado podem ser direccionadas para esses locais, através da Il-8. O efeito de activação contínua e quimiotaxia de neutrófilos pode contribuir para a destruição dos tecidos periodontais (Okada & Murakami, 1998).

O TNF α é uma citocina pró-inflamatória secretada principalmente por monócitos e macrófagos, que induz a secreção de collagenases pelos fibroblastos, estando implicada na destruição dos tecidos periodontais. Também activa os osteoclastos, provocando reabsorção óssea e tem efeito sinérgico com a Il-1 (McFarlane & Meikle, 1991; Okada & Murakami, 1998). Estudos revelam que os monócitos de pacientes com periodontite libertam mais Il-1 β e TNF α do que monócitos de pacientes saudáveis, quando estimulados com LPS (McFarlane & Meikle, 1991).

Para além das citocinas, destaca-se o papel das MMPs na destruição dos tecidos periodontais, nomeadamente a nível da matriz extracelular. As MMPs são uma família de proteases dependentes do cálcio e do zinco e representam enzimas chave na

degradação de tecidos (Gemmell *et al.*, 2007; Garlet, 2010). São produzidas por células residentes, incluindo fibroblastos, macrófagos, células epiteliais e células inflamatórias. As MMPs são reguladas por inibidores teciduais, designados por TIMPs (Garlet *et al.*, 2004; Gemmell *et al.*, 2007). Usualmente, os TIMPs estão em equilíbrio com as MMPs e a matriz é remodelada de forma altamente regulada (Garlet *et al.*, 2004). A destruição tecidual no processo da doença pode resultar da perturbação deste equilíbrio, com favorecimento das MMPs sobre os seus inibidores, existindo maior desequilíbrio em casos de periodontite agressiva. A nível da literatura é consensual o aumento da expressão destas proteases nos tecidos periodontais infectados e a sua participação na destruição de tecidos moles e ósseos, o que origina os sinais clínicos da doença (Garlet *et al.*, 2004). Estudos efectuados indicam que a actividade das MMPs se relaciona com a severidade da doença periodontal e a sua concentração diminui após tratamento (Berglundh *et al.*, 2007). As MMPs, que são libertadas não apenas por neutrófilos, mas também por fibroblastos contribuem para a degradação de colagénio tipo I, II e III. Estudos *in vivo* revelaram que as collagenases 2 e 3 (MMPs 8 e 13) têm origem em células plasmáticas e em macrófagos. A MMP 13 parece ter uma capacidade superior relativamente a outras MMPs, sendo activa na degradação de colagénio tipo IV, proteoglicanos, fibronectina e pode intervir na destruição óssea (Berglundh *et al.*, 2007).

Na periodontite, à medida que ocorre destruição do tecido conjuntivo, as células epiteliais proliferam apicalmente ao longo da superfície radicular e a bolsa periodontal torna-se mais profunda, o que aumenta a extensão do infiltrado inflamatório. A flora torna-se mais anaeróbia e a resposta do hospedeiro torna-se mais destrutiva e crónica (Kinane, 2001).

Adicionalmente à destruição do tecido conjuntivo, a perda óssea alveolar é um evento chave na periodontite. A integridade tecidual depende de um equilíbrio delicado entre a reabsorção óssea pelos osteoclastos e formação óssea pelos osteoblastos (Garlet *et al.*, 2004). Durante a resposta inflamatória, citocinas e outros mediadores estimulam os osteoblastos do periósteo, alterando os níveis de expressão de uma proteína designada ligando do receptor activador do factor nuclear κ B (RANKL) na superfície dos osteoblastos. O mecanismo *major*, que regula a actividade dos osteoclastos é constituído pelo receptor activador do factor nuclear κ B (RANK), seu ligando (RANKL) e por outro receptor, que inibe a ligação RANKL-RANK, a osteoprotegerina (OPG) (Taubman *et al.*, 2005; Gemmell *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2007; Cochran, 2008; Garlet, 2010).

O RANK é uma proteína pertencente à família do TNF α presente na superfície das células precursoras dos osteoclastos. O seu ligando RANKL pode ser encontrado na superfície dos osteoblastos, das células estromáticas e dos linfócitos T e B. Está envolvido na osteoclastogénese fisiológica e na perda óssea patológica (Taubman *et al.*, 2005; Gemmell *et al.*, 2007). O RANKL liga-se ao RANK presente na superfície de pré-osteoclastos e induz a sua maturação e activação. Quando as concentrações de OPG são superiores relativamente às da expressão do RANKL, a OPG liga-se ao RANKL, inibindo a sua ligação ao RANK. Esta inibição leva a uma redução da formação de osteoclastos e a apoptose do osteoclastos preexistentes (Taubman *et al.*, 2005; Gemmell *et al.*, 2007; Cochran, 2008; Garlet, 2010). Portanto, o equilíbrio entre a expressão de RANKL e OPG é essencial na determinação da actividade osteolítica (Garlet, 2010). Quando a expressão de RANKL é superior à de OPG, o RANKL está disponível para se ligar ao RANK. Uma diminuição da concentração relativa de OPG ou aumento da expressão de RANKL pode resultar em reabsorção óssea patológica (Cochran, 2008). Foram detectadas concentrações aumentadas de RANKL e diminuídas de OPG no fluido gengivo-crevicular de pacientes com periodontite, comparativamente com grupos de controlo (Gemmell *et al.*, 2007; Garlet, 2010). Durante a resposta inflamatória, citocinas pró- inflamatórias como Il-1 β , Il-6, Il-11, Il-17 e o TNF α podem induzir osteoclastogénese pelo aumento da expressão do RANKL, enquanto diminuem a produção de OPG nos osteoblastos ou células estromáticas (Gemmell *et al.*, 2007; Cochran, 2008). Os linfócitos B e T parecem ser uma fonte abundante de RANKL nos tecidos gengivais isolados a partir de indivíduos com periodontite.

Constata-se assim, que além do efeito protector, as respostas inatas e adaptativas, exercem um efeito destrutivo sobre os tecidos periodontais (Taubman *et al.*, 2005).

5. Relevância da susceptibilidade individual

A acumulação de placa bacteriana não provoca os mesmos efeitos em todos os pacientes. Alguns pacientes desenvolvem formas agressivas de periodontite, com perda prematura dos dentes, outros nunca chegam a desenvolver a doença. Através de estudos de gengivite experimental verificou-se a existência de diferentes taxas de desenvolvimento de inflamação periodontal. Num estudo com 62 pacientes, nos quais foram eliminadas todas as medidas de controlo de placa, durante 21 dias, Wiedemann

verificou a existência dos seguintes grupos: pacientes sem sinais de inflamação, pacientes com inflamação subgingival em 14 dias, pacientes com inflamação gengival ao fim de 21 dias. Estudos posteriores revelaram a existência de indivíduos resistentes à inflamação gengival e indivíduos com inflamação gengival superior à média. Estas diferentes susceptibilidades não podem ser atribuídas à placa bacteriana (Wiedemann *et al.*, 1979; Kinane *et al.*, 2007).

Após o desafio imposto pela invasão bacteriana, existe uma interacção entre os produtos bacterianos e os tecidos periodontais, que induz a expressão de moléculas de adesão e a produção de citocinas pró-inflamatórias. Os neutrófilos migram para as localizações infectadas a partir do epitélio juncional para o sulco gengival. A presença contínua de bactérias a nível do sulco leva a que infiltrado inflamatório se torne essencialmente constituído por linfócitos e macrófagos. Nos pacientes com periodontite, esta resposta inflamatória resulta na destruição do tecido conjuntivo e perda do osso alveolar. O LPS e citocinas, como Il-1, TNF α e PgE₂ inibem os genes responsáveis pela produção de colagénio e activam os genes que regulam a expressão das MMPs nas células endoteliais, epiteliais e fibroblastos, resultando na destruição da matriz extracelular. A progressão da doença é o resultado da perturbação da homeostase dos tecidos causada pela presença contínua de bactérias patogénicas, que leva a um aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, MMPs e PgE₂ e diminuição dos níveis de Il-10, TGF β e dos inibidores das MMPs. É o equilíbrio entre estes mediadores que determina a evolução da doença (Houri- Haddad *et al.*, 2007).

Estudos revelam que a genética desempenha um papel *major* no desenvolvimento da periodontite (Kinane & Lappin, 2002; Kinane *et al.*, 2007). Um diverso número de polimorfismos genéticos está relacionado com o aumento da susceptibilidade à doença (Ohlrich *et al.*, 2009). Variações nos receptores tipo Toll e nas vias de sinalização levam a alterações na resposta aos patógenos, que se reflectem a nível da produção de anticorpos e citocinas (Van Dyke, 2007). A regulação genética da resposta de anticorpos a um dado patógeno faz com existam respostas mais protectoras e efectivas nuns indivíduos do que noutros. Alguns pacientes são mais susceptíveis à doença, porque não possuem capacidade de desenvolver uma resposta de anticorpos altamente específica para os antígenos bacterianos dominantes (Bascones-Martínez *et al.*, 2009).

6. Conclusão

A periodontite é uma doença inflamatória dos tecidos periodontais, que se caracteriza pela perda dos tecidos de suporte dos dentes, levando em última instância à perda dentária. É uma doença infecciosa, despoletada por patógenos periodontais que desencadeiam respostas imunes e inflamatórias crônicas, que determinam a progressão da doença.

Os principais patógenos periodontais são as bactérias pertencentes ao complexo vermelho, nomeadamente, P.g., T.f. e T.d., e ainda A.a., e P.i. Em pacientes com periodontite crónica e agressiva existe uma elevada prevalência destes microrganismos, que se correlaciona com a destruição periodontal.

A diversidade e virulência dos patógenos periodontais constitui um grande desafio ao sistema imune do paciente, que procura eliminar esses patógenos através de respostas inatas e adaptativas. A patogénese da doença periodontal relaciona-se com o desenvolvimento destas respostas, cujo objectivo primordial é a defesa dos tecidos contra a invasão bacteriana. Contudo, a maior parte da destruição tecidual ocorre via resposta inflamatória, devido à activação de mecanismos de reabsorção óssea e produção de proteases, que degradam a matriz extracelular. Factores genéticos e ambientais são também determinantes na ocorrência e severidade da doença.

A genética assume um papel de extrema importância no desenvolvimento da periodontite. O desenvolvimento desta doença implica a existência prévia de gengivite, porém um paciente com gengivite não desenvolve obrigatoriamente periodontite, constatando-se que a placa bacteriana não exerce os mesmos efeitos em todos os pacientes. É a eficácia da resposta de anticorpos, regulada geneticamente, que determina a susceptibilidade do indivíduo para a periodontite. Indivíduos incapazes de desenvolver respostas de anticorpos adequadas contra os patógenos periodontais apresentam maior susceptibilidade para a doença.

BIBLIOGRAFIA

1. Amano A. Molecular interaction of *Porphyromonas gingivalis* with host cells: implications for the microbial pathogenesis of periodontal disease. J Periodontol 2003; 74(1): 90-96.
2. Berglundh T, Donati M, Zitzmann N. B cells in periodontitis- friends or enemies? Periodontology 2000 2007; 45: 51-66.
3. Bhatavadekar N, Williams R. Modulation of the host inflammatory response in periodontal disease management: exciting new directions. International Dental Journal 2009; 59(5): 305-308.
4. Bascones-Martínez A, Muñoz- Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo- Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2009; 14 (12): 680-5.
5. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Potentiel pathogénique de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* et *Tannerella forsythia*, le complexe bactérien rouge associé à la parodontite. Pathologie Biologie 2007; 55: 154-162.
6. Brunner J *et al.* The capsule of *Porphyromonas gingivalis* reduces the immune response of human gingival fibroblasts. BMC Microbiology 2010; 10:5.
7. Dahlén G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. Adv Dent Res 1993; 7(2): 163-174.
8. Ding Y *et al.* Membrane components of *Treponema denticola* trigger proteinase release from human polymorphonuclear leukocytes. J Dent Res 1996; 75(12): 1986-1996.
9. Dixon D, Bainbridge B, Darveau R. Modulation of the innate immune response within the periodontium. Periodontology 2000 2004; 35: 53-74.
10. Dunkelberger J, Song W. Complement and its role in innate and adaptive responses. Cell Research 2010; 20: 34-50.
11. Ezzo P, Cutler C. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. Periodontology 2000 2003; 32: 24-35.
12. Fine H, Mendel D. Indicators of periodontal disease activity: an evaluation. J Clin Periodontol 1986; 13: 533-546.
13. Fives- Taylor P, Meyer D, Mintz K. Characteristics of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* invasion of and adhesion to cultured epithelial cells. Adv Dent Res 1995; 9(1): 55-62.

14. Garlet GP, Martins Jr W, Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 671-679.
15. Garlet G.P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a reappraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res* 2010; 89(12): 1349-359.
16. Gelani V et al. The role of Toll-Like Receptor 2 in the recognition of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Periodontol* 2009; 80(12): 2010-2019.
17. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol* 2000, 2007; 43: 14-40.
18. Genco RJ, Slots J. Host responses in periodontal diseases. *J Dent Res* 1984; 63(3): 441-51.
19. Górka R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus- Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clinical Periodontology* 2003; 30(12): 1046-1052.
20. Guthmiller JM, Lally ET, Korostoff J. Beyond the specific plaque hypothesis: are highly leukotoxic strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a paradigm for periodontal pathogenesis? *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12(2): 116-124.
21. Hajishengallis G. Complement and periodontitis. *Biochemical Pharmacology* 2010; 80: 1992-2001.
22. Han X, Kawai T, Taubman M. Interference with immune cell-mediated bone resorption in periodontal. *Periodontology* 2000 2007; 45(1): 76-94.
23. Hart TC, Shapira L, Van Dyke TE. Neutrophil defects as risk factors for periodontal disease. *J Periodontology* 1994; 65(5): 521-529.
24. Holt S, Ebersole J. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology* 2000 2005; 38: 72-122.
25. Hourii- Haddad Y, Wilensky A, Shapira L. T-cell phenotype as a risk factor for periodontal disease. *Periodontology* 2000 2007; 45: 67-75.
26. Ishikawa I. Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontology* 2000 2007; 43: 9-13.

27. Ji S, Kim Y, Min B-M, Choi Y. Innate immune responses of gingival epithelial cells to nonperiodontopathic and periodontopathic bacteria. *J Periodont Res* 2007; 42: 503-510.
28. Johnson R, Matthews J, Stone M, Hurt W, Newman J. immunopathology of periodontal disease. *J Periodontol* 1980; 51(12): 705-711.
29. Johnson R, Serio F. Interleukin 18 concentrations and the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 2005; 76(5): 785-790.
30. Kinane D, Lappin D. Immune processes in periodontal disease: a review. *Ann Periodontol* 2002; 7(1): 62-70.
31. Kinane D. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000 2001; 25: 8-20.
32. Kinane D, Demuth D, Sven- Ulrik G, Hajishengalis G, Martin M. Human variability in innate immunity. *Periodontology* 2000 2007; 45: 14-34.
33. Kornman S. Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: A New Look. *J Periodontol* 2008; 79(8): 1560-1568.
34. Krauss J, Potempa J, Lambris J, Hajishengallis G. Complementary Tolls in the periodontium: how periodontal bacteria modify complement and Toll-like receptor responses to prevail in the host. *Periodontol* 2000 2010; 52: 141-162.
35. Lamont R, Yilmaz O. In or out: the invasiveness of oral bacteria. *Periodontology* 2000 2002; 30: 61-69.
36. Lamster IB, Oshrain RL, Celenti RS, Fine JB, Garbic JT. Indicators of the acute inflammatory and humoral immune responses in gingival crevicular fluid: relationship to active periodontal disease. *J Periodont Res* 1991; 26: 261-263.
37. Lindhe J, Karring T, Lang N. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005: 19.
38. Listgarten MA. Nature of periodontal diseases: pathogenic mechanisms. *Journal of Periodontal Research* 1987; 22: 172-178.
39. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 418-425.
40. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontology* 2000 2007; 43: 41-55.
41. Mathur A, Michalowicz B. Cell- mediated immune system regulation in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(1): 76-89.
42. Meng H, Li X, Li Q, Han J, Zhao Y. Determinants of host susceptibility in aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000 2007; 43: 133-159.

43. Miller D, Lamster I, Chasens A. Role of polymorphonuclear leucocyte in periodontal health and disease. *Journal of Clinical Periodontology* 1984; 11(1): 1-15.
44. Mineoka T. Site- specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol* 2008; 79(4): 670-676.
45. Newman HN, Addison IE. Gingival crevice neutrophil function in periodontosis. *J Periodontol* 1982; 53(9): 578-86.
46. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 36: 14-26.
47. Noiri Y, Li L, Ebisu S. The localization of periodontal disease- associated bacteria in human periodontal pockets. *J Dent Res* 2001; 80(10): 1930-1934.
48. O'Brien-Simpson N, Veith P, Dashper S, Reynolds E. Antigens of bacteria associated with periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 35: 101-134.
49. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annal Periodontol* 1996, 1(1): 821-878.
50. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian Dental Journal* 2009; 54: 2-10.
51. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Criv Rev Oral Biol Med*.1998; 9(3): 248-66.
52. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clinica Chimica Acta* 343 2004: 1-16.
53. Page RC. Critical issues in periodontal Research. *J Dent Res* 1995; 74(4): 1118-1128.
54. Paju S, Pussinen P, Suominen- Taipale L, Hyvonen M, Knuutila M, Kononen E. Detection of multiple pathogenic species in saliva is associated with periodontal infection in adults. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; 47(1): 235-238.
55. Potempa J, Travis J. *Porphyromonas gingivalis* proteinases in periodontitis, a review. *Acta Biochimica Polonica* 1996; 43(3): 455-466.
56. Rescala et al. Immunologic and microbiologic profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. *J Periodontol* 2010; 81(9): 1308-1316.
57. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol* 2008; 35(8): 346-361.

58. Schenkein H. The role of complement in periodontal diseases. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 1991; 2(1): 65-81.
59. Sela M. Role of *Treponema denticola* in periodontal diseases. *Criv Rev Oral Biol Med* 2001; 12(5): 399-413.
60. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhart RA, Eastcott J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J Periodontal Res* 1993; 28: 478-86.
61. Seymour G, Powell R, Davies W. The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1979; 8(5): 249-265.
62. Smalley J.W. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res* 1994; 8(2): 320-328.
63. Slots J. Bacterial specificity in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 1986; 13(10): 912-917.
64. Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *Periodontol* 1988; 15: 85-93.
65. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology* 2005; 17(1): 1-14.
66. Taubman M, Valverde P, Han X, Kawai T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol* 2005; 76(11): 2033-2041.
67. Tietze K, Dalpke A, Morath S, Mutters R, Heeg K, Nonnenmacher C. Differences in innate immune responses upon stimulation with gram positive and negative bacteria. *J Periodontal Res* 2006; 41(5): 447-54.
68. Tokoro Y, Matsuki T, Yamamoto T, Suzuki T, Hara K. Relevance of local Th2-type cytokine mRNA expression in immunocompetent infiltrates in inflamed gingival tissue to periodontal diseases. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 166-174.
69. Travis J, Pike R, Imamura T, Potempa J. *Porphyromonas gingivalis* proteinases as virulence factors in the development of periodontitis. *J Periodont Res* 1997; 32: 120-125.
70. Van Dyke TE, Hoop G. Neutrophil function and oral disease. *Oral Biology and Medicine* 1990; 1(2): 117-133.
71. Van Dyke T, Lester M, Shapira L. The role of the host response in periodontal disease progression: implications for future treatment strategies. *J Periodontol* 1993; 64: 792-806.

72. Van Dyke T. Cellular and molecular susceptibility determinants for periodontitis. *Periodontology* 2000 2007; 45(1): 10-13.
73. Van Dyke T. The etiology and pathogenesis of periodontitis revisited. *J Appl Oral Sci* 2009; 17(1).
74. Weinberg A, Belton C, Park Y, Lamont R. Role of fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells: *Infection and Immunity* 1997; 65(1): 313-316.
75. Wiedemann W, Lahrsow J, Naujoks R. The effect of periodontal resistance on experimental gingivitis. *Dtsch Zahnärztl Z* 1979; 34: 6-9.
76. Xuesong H, Xuedong Z, Wenyan S. Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Sci* 2009; 1(2): 47-58.
77. Yamamoto M, Fujihashi K, Hiroi T, McGhee JR, Van Dyke TE, Kiyono H. Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th₁ and Th₂ type cytokines in induction of mucosal inflammation. *J Periodontal Res* 1997; 32(1): 115- 119.

ANEXOS

ÍNDICE DE ANEXOS

Figura 1. Diagrama de representação dos 3 grupos de factores que determinam a ocorrência de doença periodontal activa.	ix
Figura 2. Células e respectivos mediadores envolvidos na patogénese da doença periodontal.	ix
Figura 3. Cascatas de sinalização dos receptores tipo Toll e ligandos derivados dos microrganismos da placa bacteriana.	x
Figura 4. Vias de activação e regulação do sistema complemento.	x
Figura 5. Representação esquemática da desregulação da coagulação, complemento e cascata da calicreína-quinina causada pelas <i>gingipains</i> de <i>P. gingivalis</i> , no desenvolvimento da periodontite.	xi
Figura 6. Reabsorção do osso alveolar mediada pelas células do infiltrado inflamatório nos tecidos periodontais.	xi
Figura 7. Vias moleculares e celulares que relacionam a resposta imune com a progressão da doença periodontal.	xii
Figura 8. Representação esquemática do modelo celular e molecular da doença periodontal inflamatória crónica.	xiii

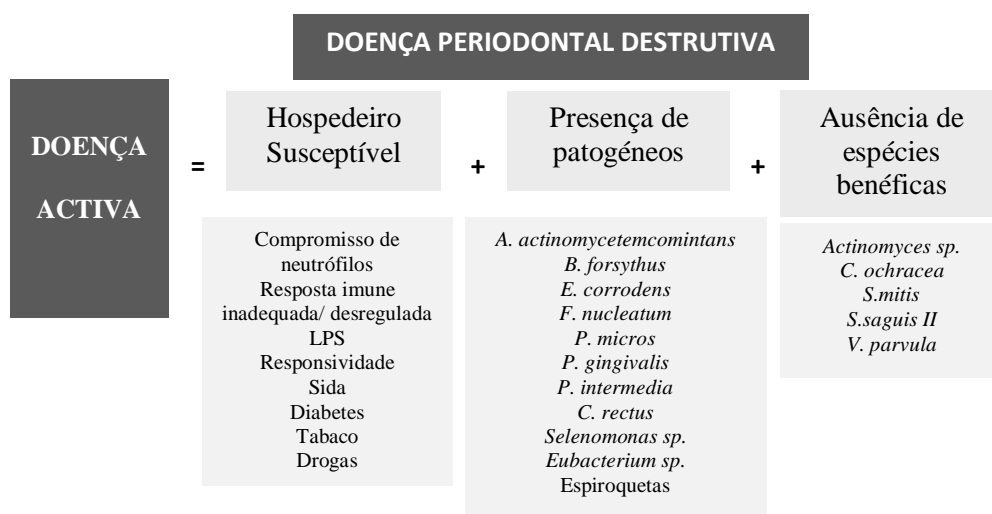


Figura 1. Diagrama de representação dos 3 grupos de factores que determinam a ocorrência de doença periodontal activa. *Adaptado de:* Socransky & Haffajee, 1992.

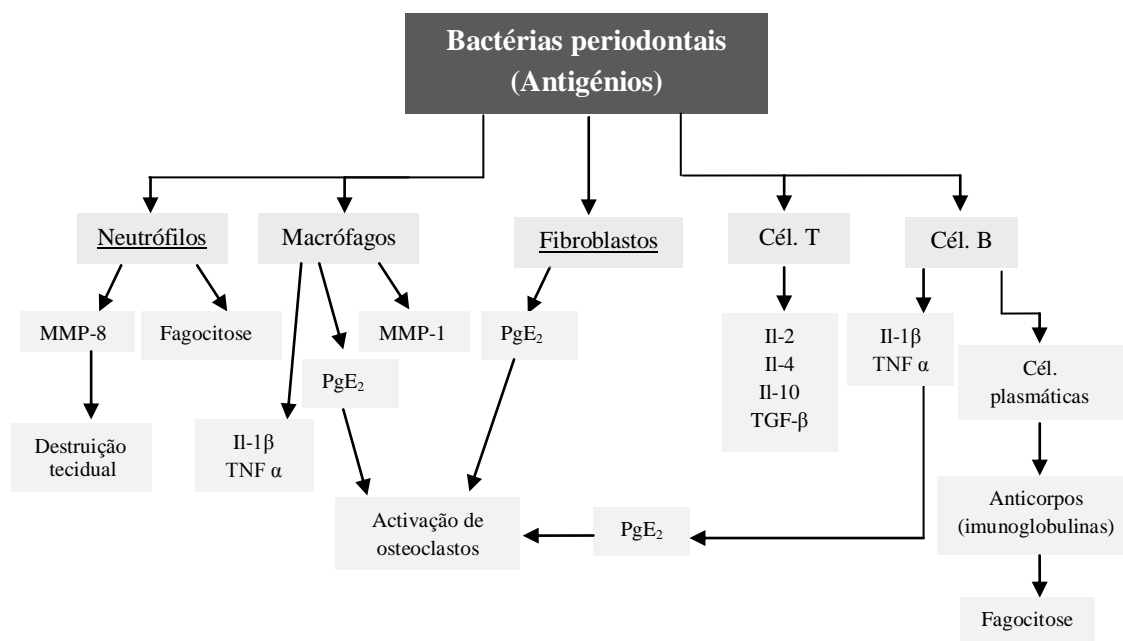


Figura 2. Células e respectivos mediadores envolvidos na patogénese da doença periodontal. *Adaptado de:* Ozmeric, 2004.

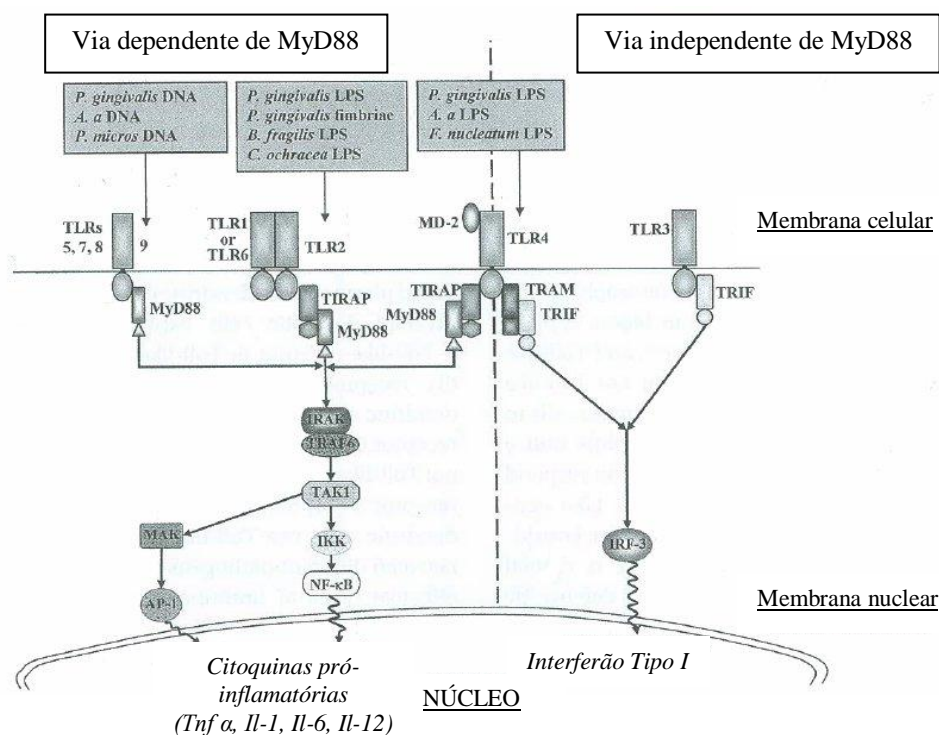


Figura 3. Cascatas de sinalização dos receptores tipo Toll e ligandos derivados dos microrganismos da placa bacteriana. *Adaptado de:* Mahanonda & Pichyangkul, 2007.

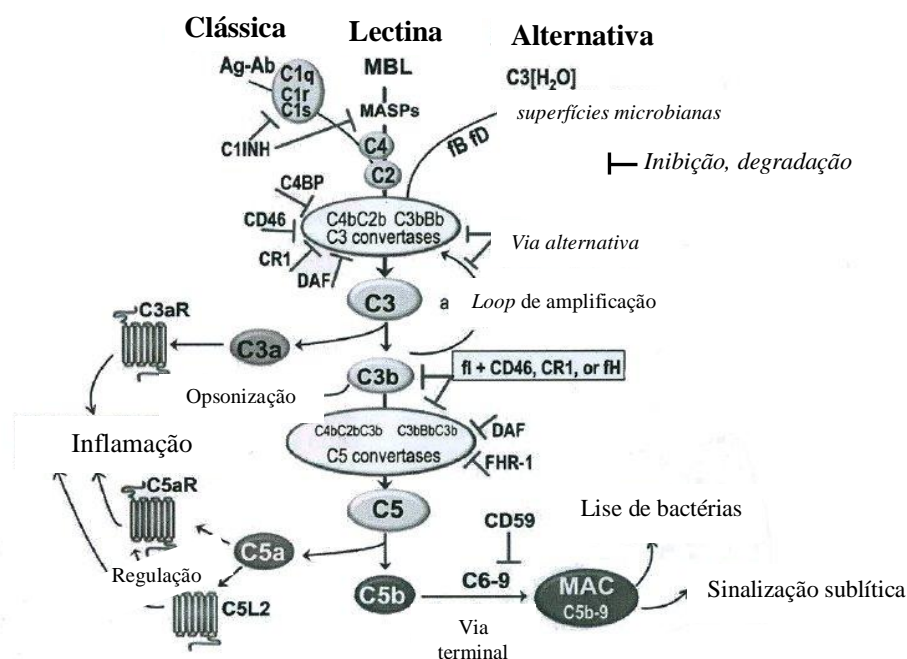


Figura 4. Vias de ativação e regulação do sistema complemento. *Adaptado de:* Hajishengallis, 2010.

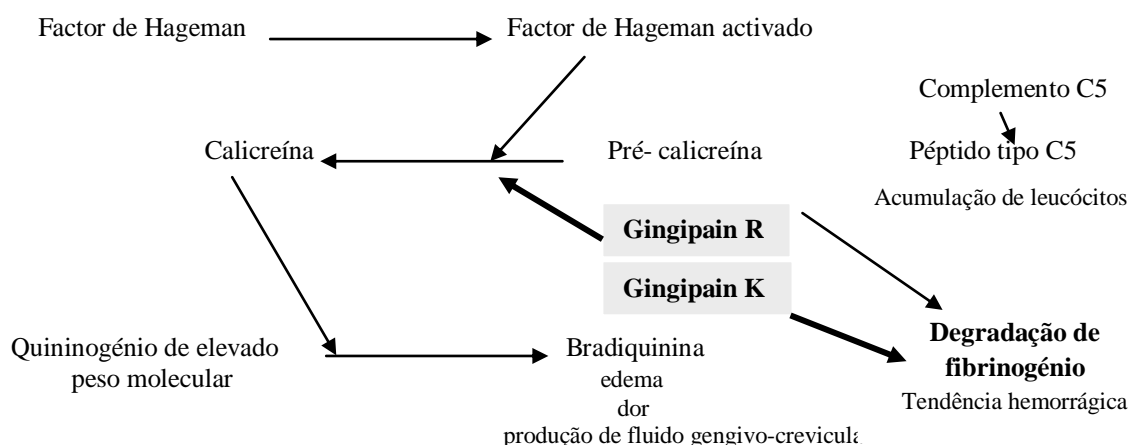


Figura 5. Representação esquemática da desregulação da coagulação, complemento e cascata da calicreína-quinina causada pelas *gingipains* de *P. gingivalis*, no desenvolvimento da Periodontite. Adaptado de: Travis *et al*, 1997.

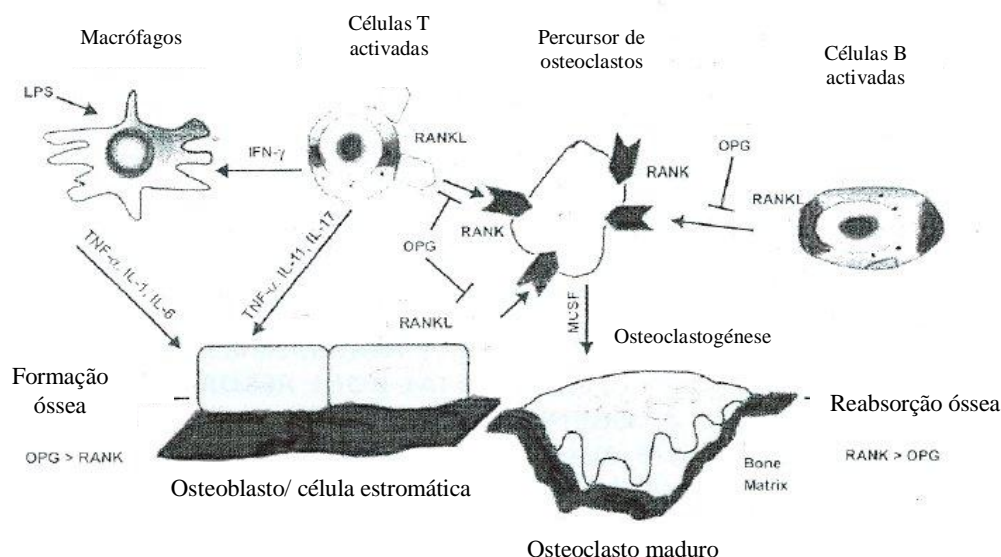


Figura 6. Reabsorção do osso alveolar mediada pelas células do infiltrado inflamatório nos tecidos periodontais. Os macrófagos estimulados pelo LPS produzem $\text{TNF } \alpha$, IL-1 e IL-6. É induzida a expressão de RANKL e consequentemente a osteoclastogénese. As células T activadas também afectam a fisiologia óssea através da produção de $\text{TNF } \alpha$, IL-11 e 17, que levam à expressão de RANKL nos osteoblastos. Adaptado de: Taubman *et al*, 2005.

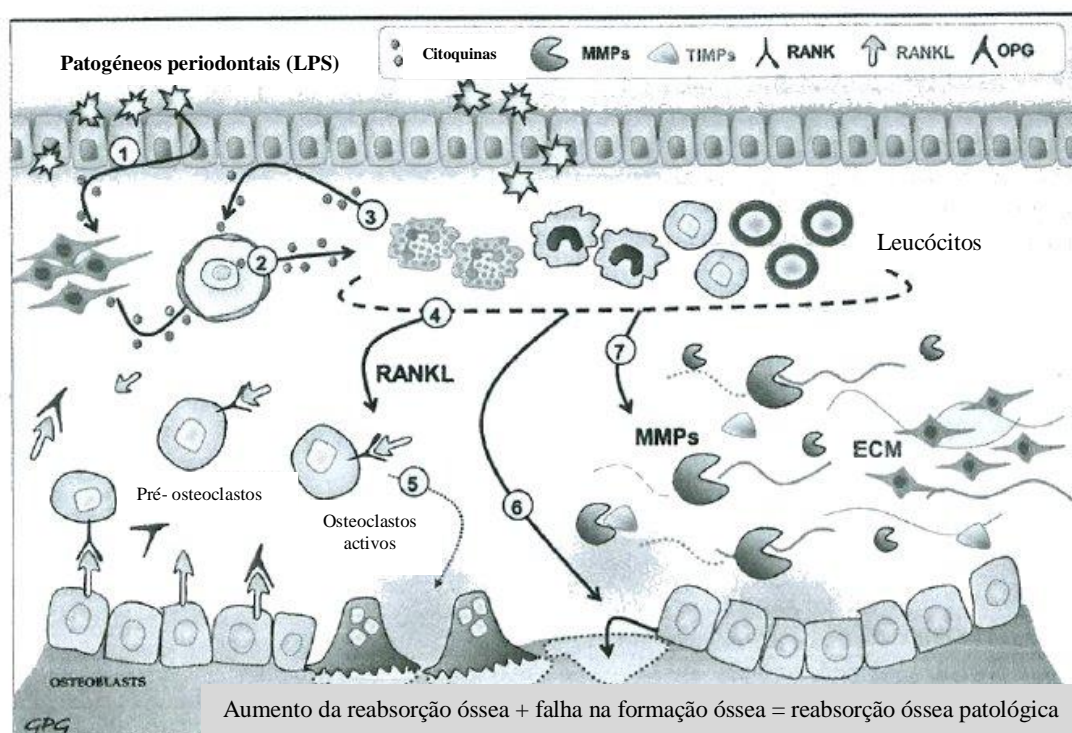


Figura 7. Vias moleculares e celulares que relacionam a resposta imune com a progressão da doença periodontal. O reconhecimento de LPS pelas células residentes desencadeia eventos inflamatórios, que resultam na produção de citocinas, que atraem leucócitos para o local de inflamação. Nos tecidos estas células, promovem a produção adicional de citocinas pró-inflamatórias, de RANKL ou induzem a sua produção pelas células residentes. O aumento dos níveis de RANKL, em detrimento dos níveis de OPG, leva a reabsorção óssea, característica da periodontite. *Adaptado de:* Garlet, 2010.

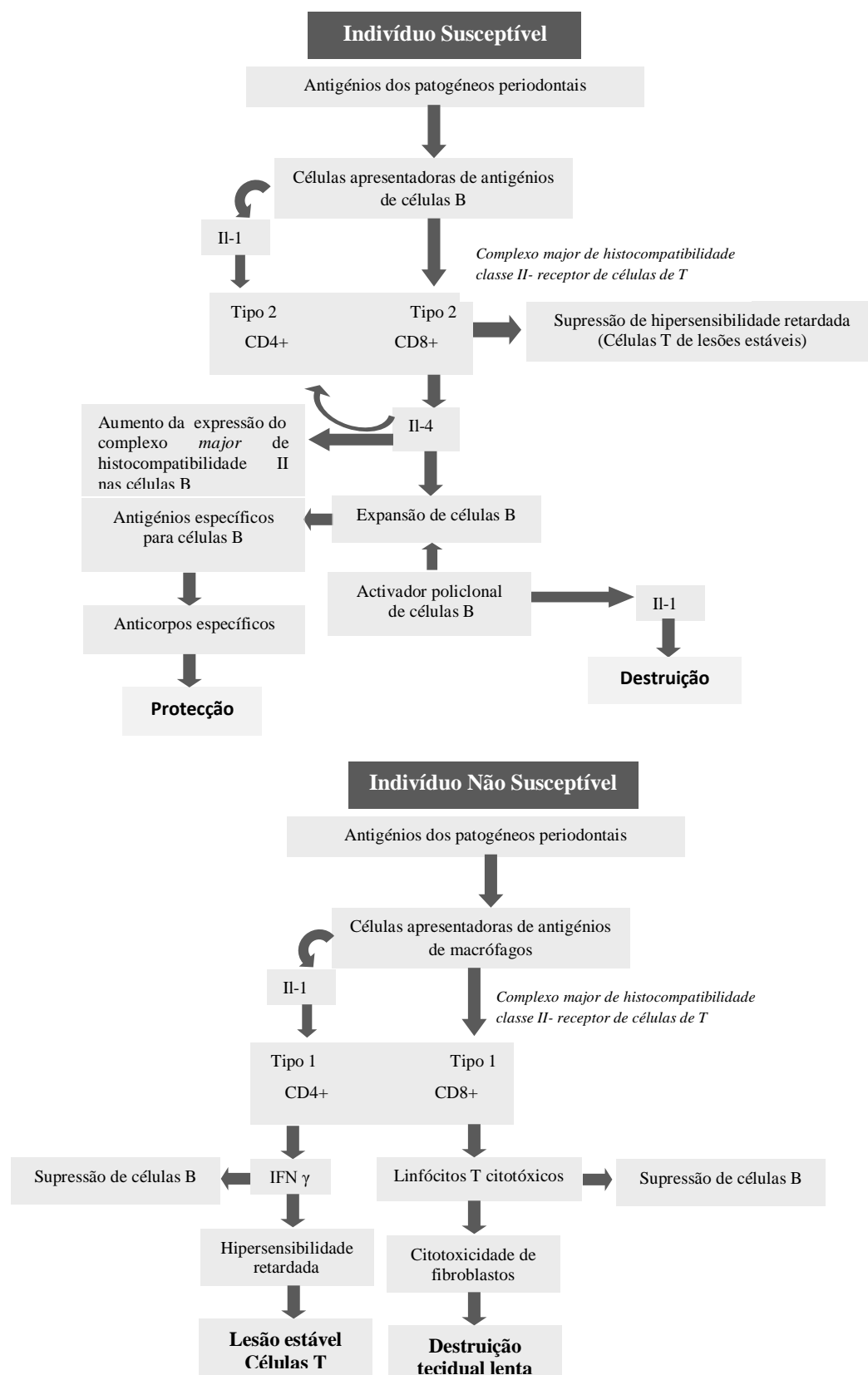


Figura 8. Representação esquemática do modelo celular e molecular da doença periodontal inflamatória crônica. *Adaptado de: Gemmell et al, 1994.*